



République Algérienne, Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen -



Faculté des Sciences, Département de Chimie
Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO)

Thèse

En vue de l'obtention du grade de docteur en chimie – Troisième cycle LMD –
Spécialité : Chimie Bio-organique et Thérapeutique

Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes
médicinales de la région ouest d'Algérie :
Artemisia arborescens L. et *Cardaria draba* (L.) Desv.

Présentée par : YOUNES Kawther

Membres du Jury :

Professeur TABTI Boufeldja	Président	Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen –
Professeur SAIDI - BESBES Salima	Examinatrice	Université d'Oran Es-senia
Professeur BELBOUKHARI Nasser	Examineur	Université de Béchar
Professeur MOUSSA-BOUJEMAA Boumediène	Examineur	Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen –
Professeur ZIANI-CHERIF Chewki	Examineur	Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen –
Professeur MERIAH - MERGHACHE Salima	Encadreur	Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen –

Année universitaire : 2014 – 2015

2009 – YOUNES Kawther
“Etude de la partie volatile des feuilles
et des fruits de *Zizyphus lotus* L.”
Mémoire de master
Sous la direction de Pr. ALLALI Hocine

Dédicace

*A Meriem, ma nièce,
venue au monde le 30 décembre 2013,
à l'achèvement de la rédaction de cette thèse*

Remerciements

A Madame le Professeur **MERIAH - MERGHACHE** Salima
Qui a dirigé mes travaux et guidé mes pas, non sans peine, dans la mise en ordre des connaissances acquises avec toute la confiance et la liberté totale pour élaborer cette thèse. Merci professeur.

A Monsieur le Professeur **TABTI** Boufeldja – Doyen de la Faculté des Sciences.
Pour avoir bien voulu me faire l'honneur de présider le jury et pour les précieux conseils qui m'ont été si profitables. Mes sincères remerciements Professeur.

A Monsieur le Professeur **BELBOUKHARI** Nasser
Madame le Professeur **SAIDI - BESBES** Salima
Monsieur le Professeur **ZIANI-CHERIF** Chewki
Monsieur le professeur **MOUSSA-BOUJEMAA** Boumédiène
En témoignage de gratitude pour avoir sacrifié votre précieux temps et avoir répondu à notre appel d'être membres du jury. Merci infiniment Professeurs.

A Monsieur le Docteur **SELLES** chewki
Monsieur le Docteur **ATMANI** abdelkarim
De n'avoir pas lésiné sur les efforts pour mettre à ma disposition le matériel nécessaire pour effectuer les procédures chimiques. Cela m'a conforté pour continuer. Merci.

A Monsieur le Docteur **DJABOU** Nassim
Mademoiselle le Docteur **MEDJDOUB** Houria
Vous vous êtes donnés beaucoup de mal pour m'effectuer les analyses chimiques et les tests biologiques des plantes. En un seul mot, vous avez réalisé un travail remarquable de professionnels. Je vous suis très reconnaissante.

A Monsieur le Professeur **BENABADJI** Nouri
Monsieur le Docteur **HASSANI** Fayçal
Vous vous êtes occupés du processus d'identification des plantes choisies. Merci beaucoup.

A Monsieur le Professeur **COSTA** Jean
Monsieur le Docteur **MUSELLI** Alain
Du Laboratoire de Chimie des Produits Naturels de l'Université Pascal Paoli (CPN-UCPP) de Corse en France
En témoignage de reconnaissance de votre disponibilité et de la manifestation permanente de bienveillance à l'égard des étudiants.

Il me plaît de rappeler que cette thèse est le produit de ce que j'ai appris à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Il est aussi le fruit de ce que m'ont inculquée les Professeurs sous la tutelle desquels j'ai réalisé ce travail, les Professeurs :
Monsieur le Professeur **ALLALI** Hocine
Monsieur le Professeur **GHALEM** Saïd
Monsieur le Professeur **KAJIMA MULENGI** Joseph
Monsieur le Professeur **BENDAHOU** Mourad

A Monsieur **BOUZIANI** Mohammed - Technicien de Laboratoire de Chimie Inorganique et Environnement (LCIE)
Mademoiselle **MOKRI** Fatima Zahra – Attachée au Laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique (LCSCO)
En toute sincérité, votre soutien m'a fait gagner beaucoup de temps et j'ai travaillé à l'aise. Vous avez été formidables. Merci.

A Tous les doctorants et doctorantes auprès desquels j'ai trouvé encouragements et estime.
Mes remerciements les plus fraternels.

A Sarah, Nadia, Meriem, Khadra, Karima, Chafika, Batoul, Souad, Faiza, kheira et l'incontournable Oum Riyad.
Avec lesquelles j'ai partagé mes joies et mes angoisses. Profonde amitié.

*A tous et à toutes,
mes vœux de bonne santé
à la mesure de la grandeur de votre noble mission
Younes Kawther*

Table de matières

Dédicace	I
Remerciements	II
Table de matières	III

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

1 Huiles essentielles	3
1.1 Historique	3
1.2 Chimie des huiles essentielles	5
1.2.1 Biosynthèse des terpènes	6
1.2.1.1 Compartimentation de la biosynthèse des terpénoïdes	6
1.2.1.2 Synthèse de l'isopentényldiphosphate (IPP)	7
1.2.1.3 Formation des précurseurs de type de prényldiphosphate	9
1.2.1.4 Formation des terpènes	9
1.2.2 Biosynthèse des composés aromatiques	9
1.3 Analyse des huiles essentielles	10
1.3.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	11
1.3.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM)	12
1.4 Activités biologiques des huiles essentielles	12
2 Flavonoïdes : Famille des polyphénols	13
2.1 Structure et classification des polyphénols	13
2.2 Activités biologiques des polyphénols	14
2.3 Structure et classification des flavonoïdes	16
2.3.1 2-Phénylbenzopyranes	17
2.3.2 Isoflavonoïdes	18
2.3.3 Néoflavonoïdes	19
2.3.4 Flavonoïdes minoritaires	20
2.4 Biosynthèse des flavonoïdes	20
2.5 Flavonoïdes comme antioxydants	23
2.5.1 Relations structure-activité	24
2.5.1.1 Groupes hydroxyles	24
2.5.1.2 O-méthylation	25
2.5.1.3 Double liaison C ₂ -C ₃ et une fonction 4-oxo	25
2.5.1.4 Présence de carbohydrate	25
2.5.2 Différentes voies de mécanismes antioxydantes	26
2.5.2.1 Piégeage des radicaux libres	26
2.5.2.2 Chélation des métaux	26
2.5.2.3 Activité anti-lipoperoxydation	26
2.5.2.4 Inhibition de diverses enzymes	27
2.6 Autres activités pharmacologiques des flavonoïdes	28
2.7 Absorption, métabolisme des flavonoïdes	28
2.7.1 Absorption des flavonoïdes	30
2.7.2 Conversion métabolique et circulation entéro-hépatique	30
3 Activités biologiques des plantes	31
3.1 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante et/ou l'activité anti-radicalaire	31
3.2 Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne	34
3.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antidiabétique	35

4	Description des plantes étudiées	37
4.1	Etude bibliographique de l'espèce <i>Artemisia arborescens</i> L. (Asteraceae)	37
4.1.1	Famille des <i>asteraceae</i>	37
4.1.2	Genre <i>Artemisia</i>	39
4.1.3	Espèce <i>Artemisia arborescens</i> L.	40
4.1.4	Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Artemisia arborescens</i> L.	40
4.2	Etude bibliographique de l'espèce <i>Cardaria draba</i> (L.) Desv. (Brassicaceae)	43
4.2.1	Famille des <i>brassicaceae</i>	43
4.2.2	Genre <i>Cardaria</i> (= <i>Lepidium</i>)	44
4.2.3	Espèce <i>Cardaria draba</i> (L.) Desv.	44
4.2.4	Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Cardaria draba</i> (L.) Desv.	45

Chapitre II : Partie expérimentale

1	Cueillette et conservation des plantes	48
2	Caractérisation de la partie volatile des plantes <i>Artemisia arborescens</i> L. et <i>Cardaria draba</i> (L.) Desv	49
2.1	Extraction de l'huile essentielle de la plante étudiée	49
2.1.1	Mécanisme de la distillation	49
2.1.1.1	Hydrodiffusion	49
2.1.1.2	Hydrolyse	50
2.1.1.3	Effet de la chaleur	50
2.1.2	Protocole d'extraction	50
2.2	Analyse chromatographique des huiles essentielles	51
2.2.1	Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	51
2.2.2	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (GPG/SM)	52
3	Dosage de polyphénols et de flavonoïdes des extraits des plantes	52
3.1	Extraction solide-liquide de plantes	52
3.1.1	Principe de l'extraction par Soxhlet	52
3.1.2	Expérimentation	53
3.2	Dosage des polyphénols totaux	53
3.2.1	Principe de la méthode de Folin-Ciocalteu	53
3.2.2	Expérimentation	54
3.3	Dosage des flavonoïdes totaux	54
3.3.1	Principe de la méthode de chlorure d'aluminium	54
3.3.2	Expérimentation	54
4	Evaluation des activités biologiques	55
4.1	Activité antibactérienne	55
4.2	Activité anti-radicalaire	55
4.2.1	Principe de la méthode de DPPH	55
4.2.2	Expérimentation	56
4.3	Activité antidiabétique	57
4.3.1	Préparation de l'extrait aqueux de la plante <i>A. arborescens</i> L.	57
4.3.2	Préparation des animaux	57
4.3.3	Recherche de la toxicité aigüe de l'extrait aqueux de la plante	58
4.3.4	Induction du diabète expérimental	58
4.3.5	Gavage de l'extrait végétal	58
4.3.6	Prélèvement du sang	59
4.3.7	Test de tolérance au glucose	59
4.3.8	Evaluation statistique	59

Chapitre III : *Artemisia arborescens* L. -Résultats et discussion-

1	Caractérisation chimique des huiles essentielles	61
2	Dosage de polyphénols et de flavonoïdes des extraits de la plante <i>A. arborescens</i> L.	71
3	Activité antibactérienne des huiles essentielles	74
4	Activité anti-radicalaire des extraits de l'espèce <i>A. arborescens</i> L.	75
5	Activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la plante <i>A. arborescens</i> L.	82
5.1	Recherche de la toxicité aigüe de l'extrait aqueux	83
5.2	Effet de l'extrait sur la glycémie	83
5.3	Effet de l'extrait sur le poids corporel des rats	84
5.4	Test de tolérance orale au glucose	84
5.5	Test de tolérance intrapéritonéale au glucose	85

Chapitre IV : *Cardaria draba* (L.) Desv. -Résultats et discussion-

1	Caractérisation chimique des huiles essentielles	89
2	Dosage des polyphénols et des flavonoïdes des extraits de la plante <i>C. draba</i> (L.) Desv.	93
3	Activité anti-radicalaire des extraits de l'espèce <i>C. draba</i> (L.) Desv.	95
	Conclusion générale	100
	Références bibliographiques	102

Introduction générale

L'Algérie dispose d'une importante biodiversité floristique, à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. De nombreux remèdes à base de plantes ont été utilisés par la population algérienne. Malgré cette utilisation traditionnelle répandue ; une élucidation chimique précise de la plupart des plantes demeure toujours insuffisante.

Dans le cadre du programme de recherche de notre laboratoire (LASNABIO) destiné à la valorisation de la flore locale et la détermination de nouveaux principes actifs ayant des intérêts thérapeutiques, deux plantes, appartenant à deux familles différentes, ont été sélectionnées dans ce présent travail : *Artemisia arborescens* L. (Astéracées) et *Cardaria draba* (L.) Desv (Brassicacées). Cette sélection s'est basée, d'une part, sur une utilisation répandue dans la médecine traditionnelle de la plante *Artemisia arborescens* (L.), localement appelée echiba (transcription en langue arabe الشيبية). D'autre part, sur l'absence des travaux chimique et biologique de la partie volatile et des extraits de l'espèce *Cardaria draba* (L.) Desv. (transcription en langue arabe تَخْمِيْبَتْ) récoltée en Algérie.

Dans ce contexte, les objectifs essentiels de ce travail sont :

- La caractérisation chimique des huiles essentielles, extraites de différentes parties des deux plantes et de différentes régions, par les techniques de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM).
- Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes contenus dans les extraits isolés par différents solvants.
- L'évaluation des activités biologiques (Activité anti-radicalaire, Activité antibactérienne, Activité antidiabétique) des huiles essentielles, ainsi que les extraits des deux plantes.

Cette étude a été réalisée dans les laboratoires suivants :

- Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO) - Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
- Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyse (COSNA) - Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
- Laboratoire de Chimie des Produits Naturels - Université de Corse Pascal Paoli (CPN-UCPP), France.

- Laboratoire Antibiotique, Antifongique: Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique (LAPSAB) - Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des sciences de la Nature et de la Vie, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
- Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) - Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des sciences de la Nature et de la Vie, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
- La ferme expérimentale de la faculté des sciences de la Nature et de la Vie, Université de Mascara.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Résumé : *Ce chapitre expose l'histoire et la chimie des huiles essentielles à savoir la biosynthèse des terpènes et des composés aromatiques. Vient, ensuite, le développement des méthodes appliquées pour la caractérisation quantitative et qualitative des huiles essentielles. Suivent les activités biologiques de ces composés volatils (Page 3).*

Dans la partie des polyphénols, la classification, les activités pharmacologiques, la biosynthèse, l'absorption et le métabolisme des flavonoïdes ont été largement décrits. Une attention particulière est portée sur l'activité antioxydante de ces métabolites secondaires en détaillant les relations structure – activité, ainsi que les différentes voies de mécanismes antioxydantes (Page 13).

Après, la troisième partie, concernant les activités biologiques des plantes, est consacrée aux différentes méthodes d'évaluation des activités antioxydante, antibactérienne et antidiabétique (Page 31).

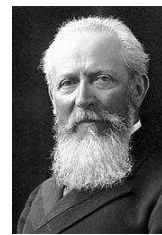
Enfin, une description botanique ainsi que les travaux antérieurs réalisés sur les deux plantes sélectionnées dans ce travail ont été exposés (page 37)

1. Huiles essentielles

1.1. Historique

Les premières investigations des constituants des huiles essentielles peuvent être attribuées au chimiste français M.J Dumas (1800-1884) qui a analysé quelques constituants hydrocarbonés, oxygénés, azotés et même sulfurés. Il a publié ses résultats en 1833. Le chercheur français M. Berthelot (1859) a caractérisé plusieurs substances naturelles en utilisant la rotation optique (*Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010*).

Cependant, les travaux les plus importants sont ceux de O. Wallach¹, un assistant de F.A. Kekulé², qui a essayé d'isoler des constituants chimiques des huiles essentielles. Les hydrocarbures de formule moléculaire $C_{10}H_{16}$ sont dénommés "terpènes" par F.A. Kekulé. Les constituants de formule moléculaire $C_{10}H_{16}O$ et $C_{10}H_{18}O$ apparentés aux terpènes étaient alors groupés sous la dénomination générique "Camphre" connu depuis l'antiquité.



O. Wallach

En 1891, O. Wallach a caractérisé les terpènes : le pinène, le camphène, le limonène, le dipentène, le phellandrène, le terpinolène, le fenchène, le sylvestrène. Entre 1884 – 1914, O. Wallach a écrit, à peu près, 180 articles qui sont résumés dans son livre "terpene und Campher" regroupant toutes les informations sur les terpènes. En 1887, il a suggéré que les terpènes doivent être construits à partir des unités de l'isoprène. En 1910, il a été honoré par le prix Nobel de la chimie pour sa recherche remarquable en chimie organique et surtout dans le domaine des composés alicycliques (Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010).

Depuis 1893, le chimiste allemand A.von Baeyer³, qui travaille aussi dans le laboratoire de F.A. Kekulé, a étudié les structures et les propriétés des terpènes cycliques. En 1905, il a reçu le prix Nobel de la chimie en reconnaissance de sa contribution au développement de la chimie organique et la chimie industrielle, pour ses travaux sur les colorants organiques et les composés hydroaromatiques (Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010).



A.von Baeyer

Les monoterpènes acycliques : le géraniol, le linalol, le citral ont été représentés par F.W. Semmler et le chimiste russe G. Wagner. Les investigations récentes de J. Read, W. Huckel, H.

¹ Otto Wallach (27 mars 1847 à Königsberg, Allemagne - 26 février 1931 à Göttingen, Allemagne) est un chimiste allemand qui reçut le prix Nobel de chimie de 1910 "en reconnaissance de ses services à la chimie organique et à l'industrie chimique grâce à ses travaux pionniers dans le champ des composés alicycliques". Il a été lauréat de la Médaille Davy en 1912.

² Friedrich August Kekulé (plus tard Kekulé von Stradonitz, 7 septembre 1829 à Darmstadt - 13 juillet 1896 à Bonn) est un chimiste organicien allemand célèbre pour la découverte de la tétravalence du carbone et la formule développée du benzène. Ses recherches en chimie organique lui valent la médaille Copley en 1885. Parmi les cinq premiers prix Nobel en chimie, trois sont ses anciens étudiants : Van 't Hoff en 1901, Fischer en 1902, et Baeyer en 1905.

³ Adolf von Baeyer (né Johann Friedrich Wilhelm Adolf von Baeyer le 31 octobre 1835 à Berlin - 20 août 1917 à Starnberg, Allemagne) est un chimiste allemand qui synthétisa l'indigo et obtint en 1905 le prix Nobel de chimie, après avoir été lauréat de la médaille Davy en 1881, en 1903, il obtient la médaille Liebig. Il est devenu membre étranger de la Royal Society le 10 décembre 1885.

Schmidt, W. Treibs et V. Prelog⁴ ont été consacrées aux structures stéréochimiques de menthol, carvomenthol, bornéol, fenchol, pinocamphéol (*Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010*).

Dans les années 1930, L. Ruzicka⁵ a développé la “*règle isoprénique*” énoncée par O. Wallach. Il a formulé la “*règle isoprénique biogénétique*” qui a été appliquée à la chimie des terpènes. Il a été nobélisé en 1939 pour ses travaux sur les polyméthylènes et les polyterpènes (*Buchanan B. et Coll, 2000, Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010*).



L. Ruzicka

L'application de la spectroscopie ultraviolette (UV) dans l'élucidation de la structure des terpènes et d'autres produits naturels a été, largement, utilisée par R.B. Woodward. Cependant, plusieurs structures de terpènes ont été déterminées grâce aux méthodes de la séparation chromatographique et aussi de la spectroscopie de la résonance magnétique nucléaire (RMN) (*Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010*).

1.2. Chimie des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels très complexes caractérisés par deux ou trois composés de très haute concentration (20 - 70 %), comparés aux autres constituants présents en faible quantité. Généralement, ces composés majoritaires déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles. Les constituants des huiles essentielles appartiennent à deux groupes d'origine biosynthétique distincte : le groupe majoritaire des composés terpéniques et l'autre des composés aliphatiques et aromatiques (*Bakkali F. et Coll, 2008*).

D'après la recherche bibliographique approfondie, le terme “terpènes” peut être mentionné sous le nom de “terpénoïdes” ou “isoprénoïdes”.

⁴ Vladimir Prelog (23 juillet 1906 à Sarajevo (Bosnie-Herzégovine) - 7 janvier 1998 à Zurich), est un chimiste suisse-croate. Il a reçu une moitié du prix Nobel de chimie de 1975.

⁵ Lavoslav (Leopold) Ružička, né le 13 septembre 1887 à Vukovar et décédé le 26 septembre 1976, est un chimiste de nationalité austro-hongroise et suisse. Il est lauréat de la moitié du prix Nobel de chimie de 1939. Il devient membre étranger de la Royal Society le 18 juin 1942. Durant la Seconde Guerre mondiale, il perd une partie de ses collaborateurs, et restructure son laboratoire avec de nouveaux chercheurs jeunes et prometteurs, parmi lesquels Vladimir Prelog, futur lauréat du prix Nobel de chimie en 1975. Avec l'aide de ses nouveaux collaborateurs, il étend une nouvelle fois le champ de ses recherches. Il est lauréat du Faraday Lectureship de la Royal Society of Chemistry en 1956. En 1957, Ružička prend sa retraite et laisse la direction de son laboratoire à Vladimir Prelog.

1.2.1. Biosynthèse des terpènes

Les terpénoïdes constituent la plus grande famille de produits naturels chez les plantes. Ils sont classés sur la base du nombre d'unités isopréniques qu'ils renferment : hémiterpènes C_5 (une unité isoprénique), monoterpènes C_{10} (deux unités isopréniques), sesquiterpènes C_{15} (trois unités isopréniques), diterpènes C_{20} (quatre unités isopréniques), triterpènes C_{30} (six unités isopréniques), tétraterpènes C_{40} (huit unités isopréniques), polyterpènes (plus de huit unités isopréniques c'est-à-dire plus de quatre unités terpéniques) (*Dubey V.S. et Coll, 2003, Zwenger S. et Basu C., 2008*).

Chez les plantes, tous les isoprénoïdes sont synthétisés à partir de deux précurseurs : isopentényldiphosphate (IPP) et son isomère diméthylallyldiphosphate (DMAPP). Ces précurseurs peuvent être produits par deux voies : l'une celle du mévalonate (MVA) et l'autre celle du 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate (DXP) (*Kirby J. et Keasling D.J., 2009, Martin V.J.J. et Coll, 2003*). Dans certaines références, la voie du 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate (DXP) est appelée aussi la voie du 2-C-méthyl-érythritol 4-phosphate (MEP).

1.2.1.1. Compartimentation de la biosynthèse des terpénoïdes

Les trichomes glandulaires, les cavités sécrétrices des feuilles et l'épiderme glandulaire des pétales de fleur produisent les terpénoïdes des huiles essentielles (*Buchanan B. et Coll, 2000*).

Chez les plantes supérieures, la voie du mévalonate est opérationnelle dans le cytoplasme et les mitochondries : les stérols, les sesquiterpènes et l'ubiquinone sont synthétisés par la voie du mévalonate. Tandis que la voie du 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate est active dans les plastes pour la synthèse des hémiterpènes, des monoterpènes, des diterpènes et des caroténoïdes. La séparation compartimentale des deux voies de la biosynthèse de l'isopentényldiphosphate (IPP) n'est pas absolue puisqu'il existe un échange métabolique entre les deux compartiments. L'existence d'un tel échange dépend de l'espèce, de la présence et de la concentration des précurseurs exogènes des terpénoïdes (*Eisenreich W. et Coll, 2001*).

1.2.1.2. Synthèse de l'isopentényldiphosphate (IPP)

Voie du mévalonate (MVA)

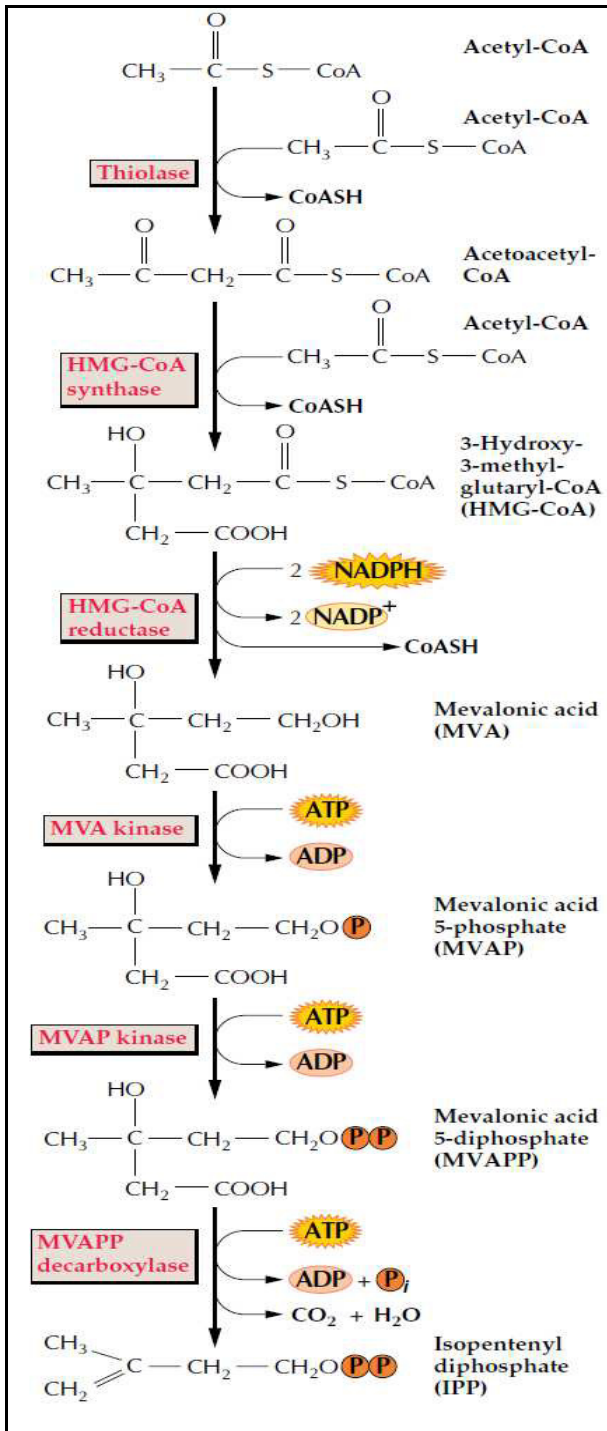


Figure 1. Synthèse de l'IPP par la voie du mévalonate
(Buchanan B. et Coll, 2000)

La voie du mévalonate consiste en six étapes enzymatiques qui transforment l'acétyl-CoA en isopentényldiphosphate (IPP) (Figure.1) (Kirby J. et Keasling D.J., 2009).

Cette voie débute par deux condensations de trois molécules d'acétyl-CoA catalysées par deux enzymes : Thiolase et hydroxyméthyl-glutaryl-CoA synthase (HMG-CoA synthase), respectivement.

Le produit résultant, 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA (HMG-CoA) est réduit, par la suite, en acide mévalonique sous l'action de l'enzyme : HMG-CoA réductase.

L'acide mévalonique 5-diphosphate (MVAPP) est biosynthétisé par une double phosphorylation de l'acide mévalonique catalysée, respectivement, par la mévalonate kinase (MVA kinase) et la phosphomévalonate kinase (MVAP kinase).

L'acide mévalonique 5-diphosphate (MVAPP) est ensuite décarboxylé par la diphosphomévalonate décarboxylase (MVAPP décarboxylase) pour former l'isopentényldiphosphate (IPP) (Buchanan B. et Coll, 2000, Liao, Z.H. et Coll, 2006).

L'isopentényldiphosphate (IPP) et le diméthylallyldiphosphate (DMAPP) peuvent s'isomériser grâce à une enzyme : IPP isomérase (Liao, Z.H. et Coll, 2006).

Voie du 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate (DXP)

La voie du 2-C-méthyl-érythritol 4-phosphate (MEP), consiste en sept étapes enzymatiques impliquées dans la formation de l'isopentényldiphosphate (IPP) à partir du pyruvate et du glycéraldéhyde 3-phosphate (GAP) (Figure. 2).

Dans cette voie, le pyruvate réagit avec la thiamine pyrophosphate (TPP) pour donner l'hydroxyéthyl-TPP. L'étape suivante consiste en la condensation de l'hydroxyéthyl-TPP avec le glycéraldéhyde 3-phosphate (GAP) pour former le 1-déoxy-D-xylulose-5-phosphate (DOXP) sous l'action de l'enzyme DOXP synthase (DXS). Ce dernier subit un réarrangement et une réduction conduisant à la formation du produit 2-C-méthyl-érythritol 4-phosphate (MEP) grâce à une enzyme : DOXP réducto-isomérase appelée aussi MEP synthase.

Le 2-C-méthyl-érythritol 4-phosphate (MEP) est, ensuite, converti en 1-hydroxy-2-méthyl-2-(E)-butényl 4-diphosphate (HMBPP) par une action enzymatique consécutive de 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate cytidyltransférase (MCT), 4-(cytidine 5'-diphospho)-2-C-méthyl-D-érythritol kinase (CMK), 2-C-méthyl-D-érythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase (MDS) et (E)-4-hydroxy-3-méthylbut-2-ényl diphosphatesynthase (HDS).

La dernière étape est la conversion de 1-hydroxy-2-méthyl-2-(E)-butényl 4-diphosphate (HMBPP) en un mélange de l'isopentényldiphosphate (IPP) et le diméthylallyldiphosphate (DMAPP) (5 :1) catalysée par une enzyme : (E)-4-hydroxy-3-méthylbut-2-ényl diphosphate réductase (HDR) (Buchanan B. et Coll, 2000, Liao, Z.H. et Coll, 2006, Nagegowda D.A., 2010).

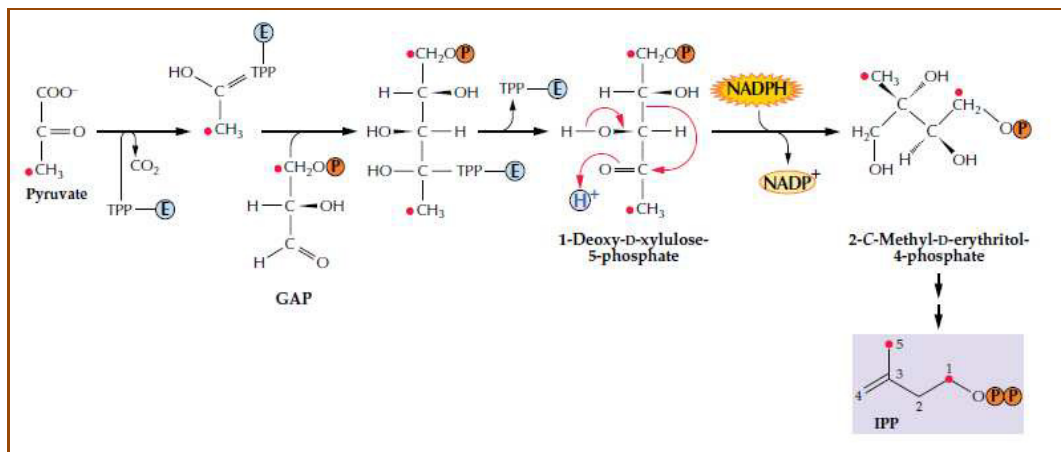


Figure 2. Synthèse de l'IPP par la voie du 2-C-méthyl-érythritol 4-phosphate (MEP)

(Buchanan B. et Coll, 2000)

1.2.1.3. Formation des précurseurs de type de prényldiphosphate

Dans la deuxième phase de la biosynthèse des terpènes, l'isopentényldiphosphate (IPP) et le diméthylallyldiphosphate (DMAPP) sont utilisés dans les réactions de condensation pour produire le géranyldiphosphate (GPP), le farnésyldiphosphate (FPP), le géranylgéranyldiphosphate (GGPP) : des précurseurs des monoterpènes, des sesquiterpènes et des diterpènes, respectivement. Ces réactions sont catalysées par des enzymes appelées : les prényltransférases incluant : le géranyldiphosphate synthase (GDS), le farnésyldiphosphate synthase (FDS), le géranylgéranyldiphosphate synthase (GGDS).

Le géranyldiphosphate synthase (GDS) catalyse la formation du géranyldiphosphate (GPP) par une réaction de condensation d'une molécule d'IPP sur une molécule de DMAPP.

Le farnésyldiphosphate synthase (FDS) catalyse une réaction de condensation de deux molécules d'IPP avec une molécule de DMAPP pour former le farnésyldiphosphate (FPP) : le précurseur des sesquiterpènes et des triterpènes.

Le géranylgéranyldiphosphate synthase (GGDS) catalyse la formation du géranylgéranyldiphosphate (GGPP), précurseur des diterpènes et des tétraterpènes, par condensation de trois molécules d'IPP sur une molécule de DMAPP (Buchanan B. et Coll, 2000, Nagegowda D.A., 2010, Cheng A.X, et Coll, 2007).

1.2.1.4. Formation des terpènes

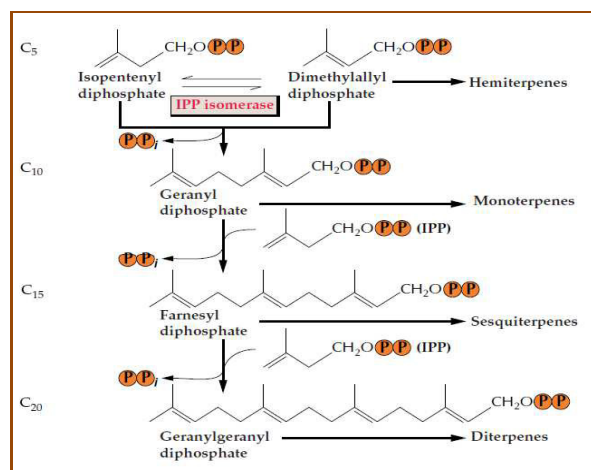


Figure 3. Biosynthèse des terpènes (Buchanan B. et Coll, 2000)

La troisième étape de la biosynthèse des terpènes consiste en la formation des monoterpènes, des sesquiterpènes et des diterpènes à partir de prényldiphosphates : le géranyldiphosphate (GPP), le farnésyldiphosphate (FPP), le géranylgéranyldiphosphate (GGPP), respectivement, sous l'action des enzymes connues sous le nom de terpènes synthases (TPSS) (Figure. 3) (Cheng A.X, et Coll, 2007).

1.2.2. Biosynthèse des composés aromatiques

Les composés aromatiques sont biogénétiquement issus d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique. Cet intermédiaire se forme par une série de conversions biogénétiques, dont la première étape est une condensation aldolique stéréospécifique, entre le phosphoénolpyruvate et

l'érythrose-4-phosphate pour former un composé en C₇, dont la cyclisation conduit à l'acide déhydroquinique.

Ce dernier se déshydrate pour donner l'acide déhydroshikimique qui, à son tour conduit à l'acide shikimique par une réaction de réduction. A partir de cet important précurseur se forment, par des réactions d'élimination, de réarrangement intramoléculaire, les dérivés aromatiques (Figure. 4) (Figueredo G., 2007).

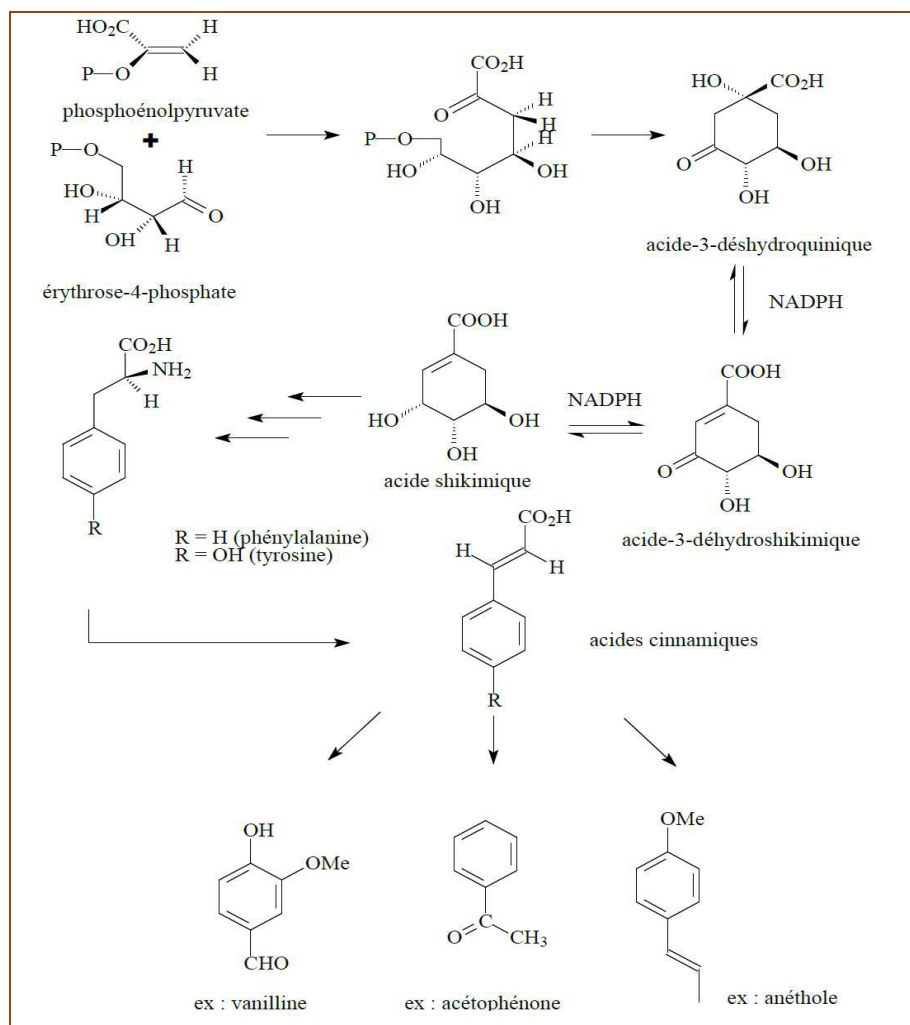


Figure 4. Synthèse des dérivés du phénylpropane (Figueredo G., 2007)

1.3. Analyse des huiles essentielles

Les méthodes les plus appliquées pour l'analyse des huiles essentielles sont des méthodes chromatographiques qui permettent la séparation et l'identification des constituants. Cependant, une confirmation supplémentaire est exigée pour une identification fiable en évitant des caractérisations ambiguës.

1.3.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

L'analyse des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse a été effectuée dans les années 1950, quand le professeur A. Liberti a analysé les huiles essentielles d'agrumes, quelques années après la description, pour la première fois, de la chromatographie gaz – liquide (CGL), communément connue sous le nom de CG, par A.T. James et A.J.P. Martin.

Les colonnes, les plus fréquemment, utilisées pour l'analyse des huiles essentielles sont des colonnes capillaires. Le choix de la colonne est très important pour cette analyse ; la nature chimique et l'épaisseur du film de la phase stationnaire, la longueur et le diamètre interne de la colonne seront considérés. En général, l'analyse des huiles essentielles est effectuée sur des colonnes de 25 – 50 m, avec un diamètre interne qui varie de 0.20 à 0.32 mm et une épaisseur du film de 0.25 μm (*Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010*).

Les constituants de l'huile essentielle sont séparés en fonction de leur point d'ébullition si la phase stationnaire est apolaire, de leur polarité si cette dernière est polaire. Les terpènes et leurs dérivés oxygénés qui ont, fréquemment, des points d'ébullition similaires constituent un exemple de ce principe. Ces composés sont élués, sur une colonne apolaire, dans une gamme de temps de rétention plus étroite. Pour surmonter cette limite, des méthodes analytiques peuvent être modifiées en appliquant une élévation de la température du four pour favoriser l'élution des composés, en utilisant une phase stationnaire polaire où les composés oxygénés sont plus retenus que les composés hydrocarbonés. Cependant, le choix des phases stationnaires différentes peut offrir une meilleure résolution d'une série de composés, mais de nouvelles co-élutions peuvent, toujours, survenir (*Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010*).

Dans le cas de la caractérisation des volatils, la série de référence, la plus utilisée, correspond à n-alcanes. Les méthodes les plus étudiées et appliquées pour calculer les indices de rétention sont basées sur une équation logarithmique développée par Kovats en 1958 pour les conditions isothermes, et sur une équation proposée par Van Den Dool et Kratz en 1963, qui est utilisée dans les conditions de programmation de la température.

Cependant, il est très recommandable d'utiliser deux colonnes analytiques avec deux phases stationnaires de polarités différentes, pour avoir deux valeurs de l'indice de rétention. L'identification des composés faite sur une seule colonne peut être acceptée si une méthode spectroscopique supplémentaire est utilisée (*Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010*).

1.3.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM)

La spectrométrie de masse est basée sur la détermination des masses des molécules ou atomes présents dans l'échantillon étudié. Pour arriver à ce résultat, on commence par transformer une très petite quantité du composé à analyser en ions par un moyen adapté (bombardement avec des électrons, des atomes, des photons...). Ces ions sont alors soumis, sous un très bon vide, à l'action d'un champ électrique et /ou magnétique selon les cas.

Les forces qui s'exercent sur ces ions permettent de déterminer leur rapport *masse /charge*, donc éventuellement leur nature (*Rouessac F. et Rouessac A., 2004*).

Plusieurs approches pour l'analyse des données de la CPG/SM ont été proposées en utilisant des algorithmes, qui sont très sophistiqués pour détecter, identifier et quantifier tous les pics chromatographiques.

Cependant, les huiles essentielles sont, généralement, composées par les terpènes qui présentent des spectres de masse identiques d'où la difficulté de l'identification des constituants. Pour que la détermination des compositions des mélanges complexes par CPG/SM soit précise, l'utilisation conjointe des indices de rétention avec l'information structurale donnée par CPG/SM est largement acceptée et permet l'identification des composés (*Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010*).

1.4. Activités biologiques des huiles essentielles

Depuis des millénaires, les huiles essentielles sont employées pour guérir et prévenir les maladies. Quelques propriétés pharmacologiques des huiles essentielles seront mentionnées.

Les huiles essentielles peuvent rendre stérile une culture de microbes, signe d'une activité antiseptique. Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont capables de s'attaquer aux microbes les plus puissants, comme le staphylocoque, le bacille de Koch (tuberculose) ou le bacille typhique (typhoïde).

Les huiles essentielles ont une double action contre les microbes : elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatique). Les plus puissantes pour cela sont celles qui contiennent des phénols, lesquels sont utiles pour lutter contre les infections bactériennes, virales et parasitaires (*Moro Buronzo A., 2008*).

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les huiles essentielles, ce qui confère à ces dernières la capacité de combattre certaines pathologies virales : les huiles

essentielles arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination du mucus tout en stimulant le système immunitaire (*Moro Buronzo A., 2008*).

Les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'huiles essentielles ont la propriété de combattre les inflammations.

Les huiles essentielles présentent des propriétés cicatrisantes reconnues depuis l'antiquité et utilisées en temps de guerre pour soigner les blessés. En effet, elles ont le pouvoir de régénérer les tissus qui ont été abîmés et de favoriser la cicatrisation des blessures.

Leur pouvoir antiseptique leur permet de désinfecter en même temps les plaies, en protégeant l'organisme des processus de décomposition, des microbes et de leurs éventuels déchets nocifs (*Moro Buronzo A., 2008*).

Un grand nombre des huiles essentielles sont de puissants soutiens pour notre système circulatoire. Elles ont la capacité d'activer la circulation sanguine, de réduire les hémorroïdes et de soulager les jambes lourdes. Elles sont utilisées, aussi, pour combattre contre la cellulite.

Les huiles essentielles ont une action sur le système digestif. Elles sont efficaces contre la formation de gaz au niveau abdominal et elles favorisent la formation des sucs gastriques nécessaires à une bonne digestion (*Moro Buronzo A., 2008*).

Les huiles essentielles ont été, également, appliquées contre les tumeurs. Depuis les années 1990, les propriétés anticancéreuses des huiles essentielles et/ou leurs constituants majoritaires ont été reconnues. Une telle thérapie naturelle a été, largement, acceptée par les patients, dans le monde entier (*Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010*).

2. Flavonoïdes : famille des polyphénols

2.1. Structure et classification des polyphénols

Un large nombre de métabolites secondaires est produit par les plantes. Ces métabolites peuvent se classer en plusieurs groupes selon leur structure et leur biosynthèse. Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires ubiquistes les plus largement distribués dans le monde végétal (*Daayf F. et Lattanzio V., 2008*).

Les polyphénols constituent un groupe très complexe de diverses molécules. Ils sont présents dans les plantes médicinales, les aliments et les boissons tels que l'huile d'olive, la pomme, le jus

d'agrumes, le thé, le café et le chocolat. Ils sont, aussi, responsables des propriétés sensorielles des aliments (Colegate M.S. et Molyneux J.R., 2008).

Les termes “*phénol*” et “*polyphénol*” peuvent être définis, chimiquement, comme des substances possédant un noyau aromatique et un (phénol) ou plusieurs (polyphénol) substituants hydroxyles. La première définition complète des polyphénols, basée sur la proposition de T. White, E.C. Bate-Smith & T. Swain, est donnée par E. Haslam, qui a déclaré que les polyphénols sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 – 4000 Da, possédant 12 – 16 groupes phénoliques et 5–7 noyaux aromatiques par 1000 masse moléculaire relative, et ayant des propriétés spéciales comme la capacité de précipiter les protéines et les alcaloïdes. Par la suite, cette définition a été élargie en incluant les composés phénoliques de structure simple.

En règle générale, les polyphénols sont des métabolites secondaires naturels résultant, biogénétiquement, par différentes voies et produisant des phénols et des polyphénols monomériques et polymériques afin d'accomplir plusieurs rôles physiologiques dans les plantes (Daayf F. et Lattanzio V., 2008).

La structure des polyphénols varie de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, comme les proanthocyanidines. Plusieurs milliers de composés (parmi eux 8150 flavonoïdes) ont été identifiés.

Plusieurs classes de composés phénoliques ont été catégorisées selon leur squelette de base : C_6 (phénols simples), C_6-C_1 (acides phénoliques), C_6-C_2 (acétophénones, acides phénylacétiques), C_6-C_3 (acides hydroxycinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromones), C_6-C_4 (naphtoquinones), $C_6-C_1-C_6$ (xanthonnes), $C_6-C_2-C_6$ (stilbènes, anthraquinones), $C_6-C_3-C_6$ (flavonoïdes, isoflavonoïdes), $(C_6-C_1)_2$ (tannins hydrolysables), $(C_6-C_3)_2$ (lignanes, néolignanes), $(C_6-C_3-C_6)_2$ (bi-flavonoïdes), $(C_6-C_3)_n$ (lignines), $(C_6)_n$ (catéchol mélanines), $(C_6-C_3-C_6)_n$ (tannins condensés) (Figure .5) (Daayf F. et Lattanzio V., 2008).

2.2. Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont parmi des substances bioactives les plus, thérapeutiquement, utiles. Ces composés sont présents dans les légumes, les fruits et plusieurs autres sources alimentaires. En conséquence, la prise régulière de légumes et de fruits est très recommandée parce que les polyphénols qu'ils contiennent jouent un rôle important dans la réduction du risque des maladies chroniques et dégénératives (Apak R. et Coll, 2007).

Comme antioxydants, les polyphénols peuvent protéger les cellules contre les dommages oxydatifs et, par conséquent, limiter le risque de plusieurs maladies dégénératives associées au stress oxydatif. Les polyphénols jouent, aussi, un rôle dans la prévention des maladies cardiovasculaires, cancer, ostéoporose, diabète *mellitus* et des maladies neurodégénératives. La consommation des polyphénols limite le développement des lésions athéromateuses, inhibe l'oxydation de lipoprotéine de basse densité, qui est considérée comme le mécanisme clé dans les lésions endothéliales qui se produisent dans l'athérosclérose (*D'Archivio M. et Coll, 2007*).

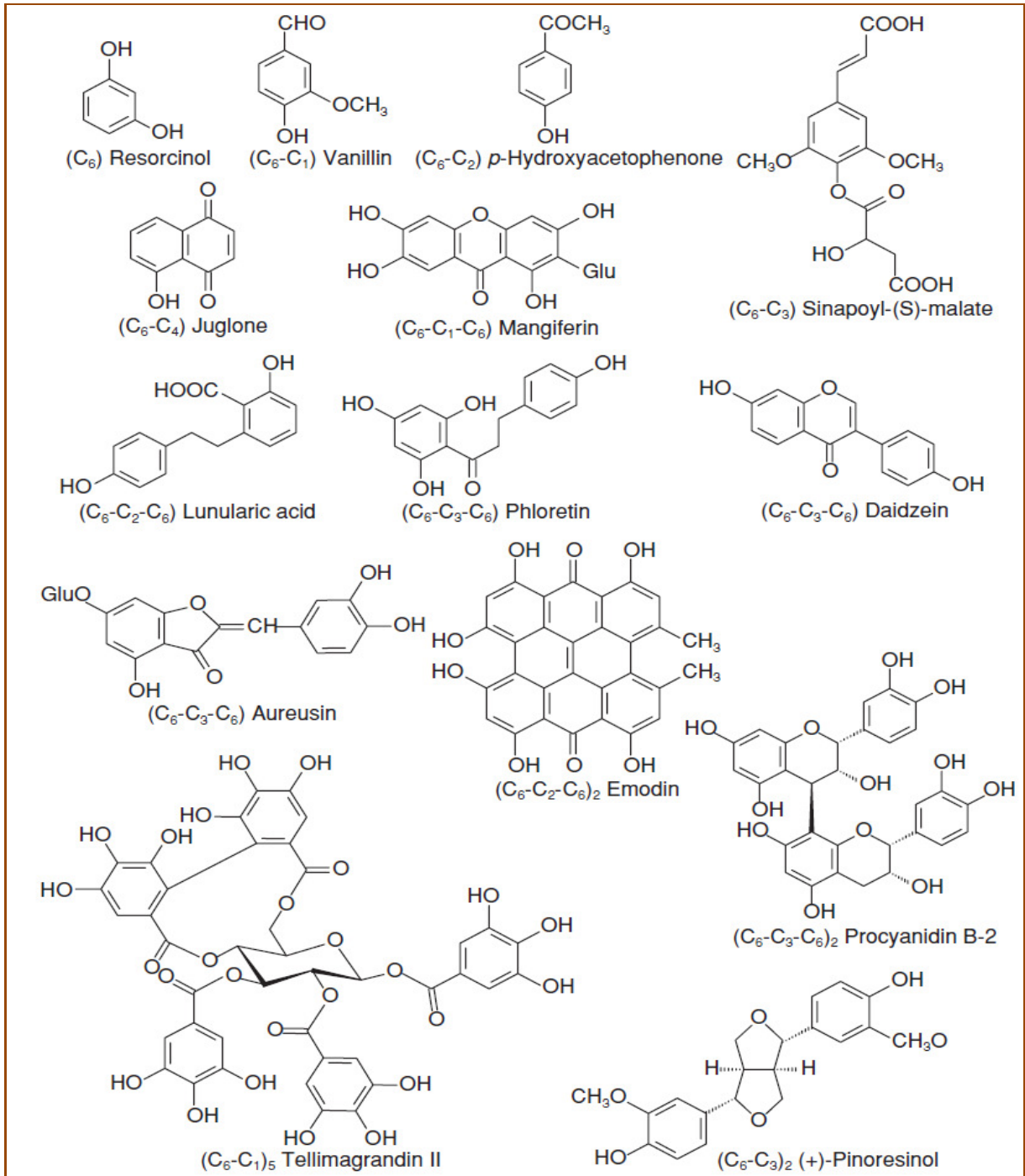


Figure 5. Quelques exemples des structures phénoliques (*Daayf F. et Lattanzio V., 2008*)

Cependant, des recherches récentes suggèrent une variété de mécanismes d'action des polyphénols dans la prévention des maladies, qui peuvent être indépendants de leurs activités antioxydantes conventionnelles. En outre, les effets pro-oxydants des polyphénols ont été décrits, comme ayant des propriétés opposées aux processus physiologiques cellulaires basiques : si comme étant des antioxydants, ils améliorent la survie cellulaire ; étant des pro-oxydants, ils peuvent induire l'apoptose et bloquer la prolifération cellulaire.

Les polyphénols peuvent exercer plusieurs autres effets biologiques comme l'inhibition ou la réduction de différents enzymes (la télomérase, la cyclooxygénase, la lipoxygénase), l'interaction aux mécanismes de transduction du signal et aux récepteurs cellulaires. De plus, les polyphénols peuvent affecter les mécanismes de caspase, la régulation du cycle cellulaire et les fonctions de la plaquette.

C'est, principalement, en raison de ces propriétés qu'ils exercent leurs effets protecteurs et reçoivent de plus en plus d'attention comme agents thérapeutiques potentiels contre plusieurs maladies dégénératives chroniques (*D'Archivio M. et Coll, 2007*).

2.3. Structure et classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques ubiquistes dans les plantes. Ces composés constituent un grand groupe de produits naturels, biologiquement, actifs. Ils sont distribués, largement, dans les plantes supérieures, mais aussi dans quelques plantes inférieures telles que les algues (*Sarker D.S. et Coll, 2006, Ahmad I. et Coll, 2006*).

Les flavonoïdes appartiennent au groupe de substances phénoliques naturelles avec des structures chimiques très variables. La plupart de flavonoïdes qui ont été identifiés (plus de 6000 flavonoïdes) sont responsables de couleurs attirantes de fleurs, fruits et feuilles (*Jedinák A. et Coll, 2004*).

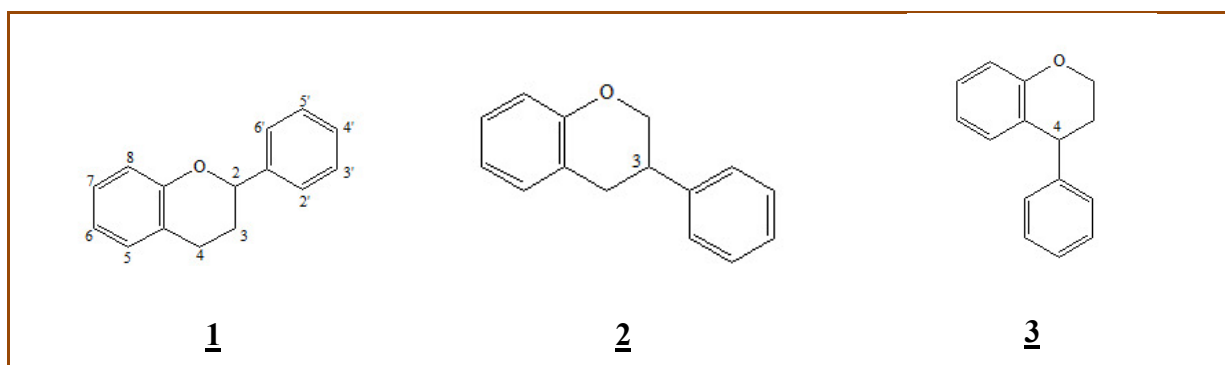
Les flavonoïdes sont, généralement, solubles dans l'eau. Plus ces composés sont conjugués, plus ils sont colorés. Ils sont présents sous forme de glycosides dans les plantes, ce qui complique la détermination de leurs structures (*Cseke J.L. et Coll, 2006*).

Dans la plupart des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme de glycosides dans les vacuoles des fleurs, feuilles, tiges ou racines, tandis que les flavonoïdes aglycones, particulièrement les flavonoïdes simples et polyméthylés, se trouvent sous forme des exsudats farineux ou de cires dans les feuilles, écorces et bourgeons (*Iwashina T., 2000*).

Le terme “flavonoïde” regroupe les produits naturels basés sur un squelette à quinze carbones C₁₅ (C₆-C₃-C₆). Les flavonoïdes sont caractérisés par la structure chimique de phénylbenzopyrane. Le cycle hétérocyclique benzopyrane est nommé par le cycle C, le cycle aromatique par le cycle A et le substituant phényle par le cycle B souvent lié en position 2 (*Passamonti S. et Coll, 2009, Keller R.B., 2009*).

Le cycle A peut exister sous deux formes : la forme de phloroglucinol qui est *méta* tri-hydroxylé ou la forme de réSORCINOL qui est *méta* di-hydroxylé. Le cycle B peut être mono-hydroxylé, *ortho* di-hydroxylé ou tri-hydroxylé. L'hétérocycle centré existe sous l'une des formes suivantes : pyrane, pyrilium ou γ -pyrone.

Les flavonoïdes peuvent être classés en quatre groupes selon la position du cycle aromatique lié au benzopyrane : flavonoïdes majoritaires (2- phénylbenzopyranes) **1**, isoflavonoïdes (3-benzopyranes) **2**, néoflavonoïdes (4-benzopyranes) **3** et les flavonoïdes minoritaires (Figure. 6) (*Pereira D.M. et Coll, 2009, Grotewold E., 2006*).



2.3.1. 2- phénylbenzopyranes

Basant sur le degré d'oxydation et la présence de saturation dans le cycle hétérocyclique C, les flavonoïdes peuvent être divisés en groupes suivants (Figure. 7): (*Grotewold E., 2006*)

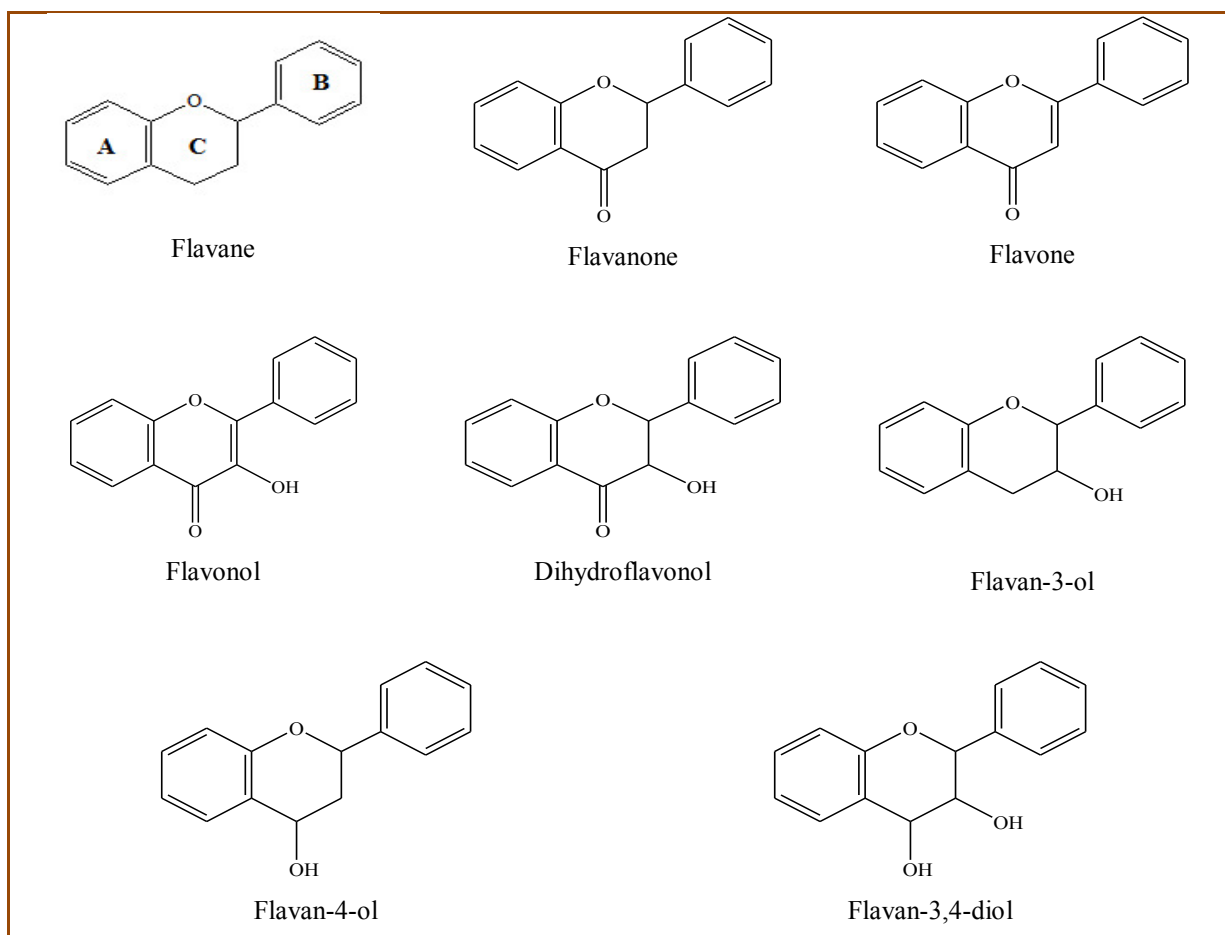


Figure 7. Différents groupes de flavonoïdes de type 2- phénylbenzopyranes (Grotewold E., 2006)

2.3.2. Isoflavonoïdes

Les isoflavonoïdes sont une sous-classe distinctive des flavonoïdes. Ils possèdent un squelette de 3-phénylchromane qui est dérivé par une migration 1,2 du groupe aryle dans le précurseur de 2-phénylchromane.

La distribution des isoflavonoïdes est limitée dans le monde végétal. En effet, ces composés sont, remarquablement, divers et les variations structurales sont importantes.

Cela résulte, non seulement, du nombre et de la complexité des substituants liés sur le 3-phénylchromane, mais aussi des niveaux d'oxydation différents et la présence de cycles supplémentaires. Les isoflavonoïdes sont subdivisés en groupes suivants ^(Figure. 8): (Grotewold E., 2006)

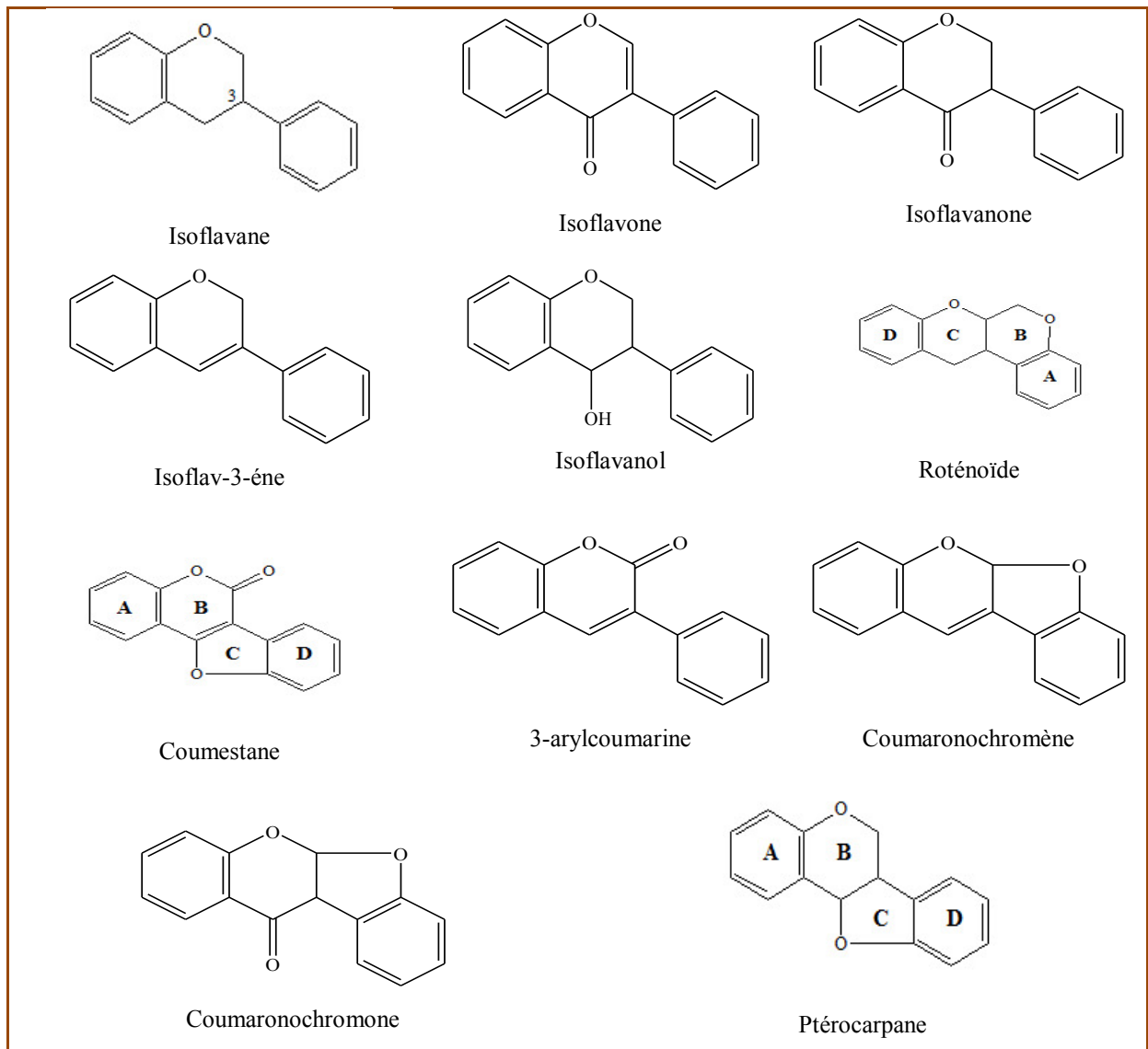


Figure 8. Différents groupes de flavonoïdes de type *isoflavonoïde* (Grotewold E., 2006)

2.3.3. Néoflavonoïdes

Ce groupe de flavonoïdes comprend 4-arylcoumarines, 3,4,-dihydro-4-arylcoumarines et néoflavènes (Figure. 9) (Grotewold E., 2006).

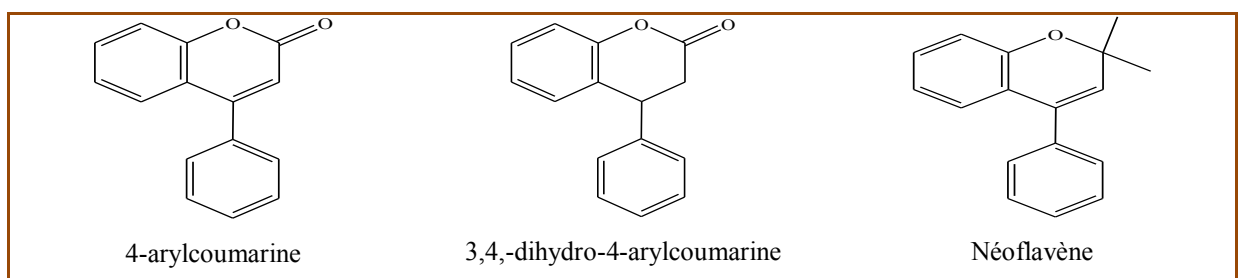


Figure 9. Différents groupes de flavonoïdes de type *néoflavonoïde* (Grotewold E., 2006)

2.3.4. Flavonoïdes minoritaires

Les produits naturels tels que les chalcones et les aurones contiennent aussi un enchaînement C₆-C₃-C₆ et sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires (Figure. 10) (Grotewold E., 2006).

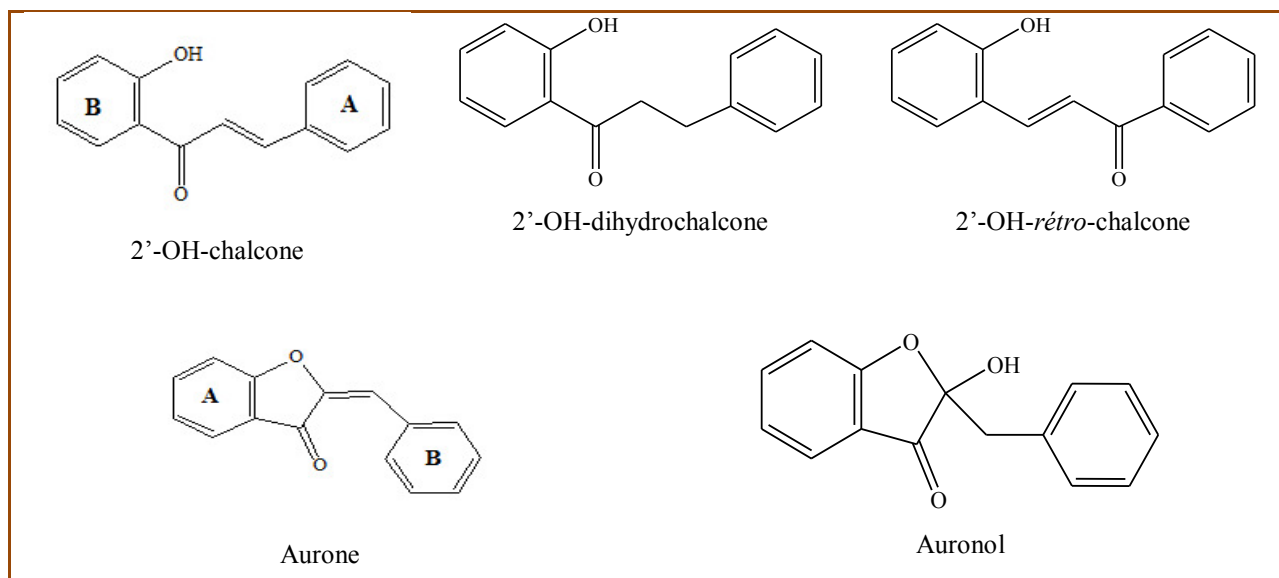


Figure 10. Quelques exemples de flavonoïdes minoritaires (Grotewold E., 2006)

2.4. Biosynthèse des flavonoïdes

De la première description des effets acide et basique sur les pigments de la plante par Robert Boyle en 1664 à la caractérisation des gènes structurels et régulateurs à la fin du 20^{ème} siècle, les recherches concernant les structures, les activités chimiques ainsi que la biosynthèse des flavonoïdes ont été développées (Winkel-Shirley B., 2001).

Les premiers flavonoïdes : les chalcones, sont formées à partir de 4-coumaroyl-CoA, dans trois réactions séquentielles impliquant la molécule de malonyl-CoA. Dans quelques espèces, la cafféoyl-CoA et la féruloyl-CoA peuvent être, aussi, utilisées comme substrats pour la formation du chalcone.

La molécule 4-coumaroyl-CoA est produite à partir de l'acide aminé : phénylalanine (la voie des phénylpropanoïdes) par trois conversions enzymatiques catalysées par : phénylalanine ammonia – lyase (PAL), cinnamate 4-hydroxylase (C4H) et 4-coumarate : CoA ligase (4CL).

La molécule malonyl-CoA est formée à partir de l'acétyl-CoA grâce à l'enzyme : acétyl-CoA carboxylase (ACC). L'acétyl-CoA peut être produite dans les mitochondries, les plastes, les peroxysomes et le cytosol. C'est l'acétyl-CoA cytosolique qui est utilisée dans la biosynthèse des

flavonoïdes, et elle est formée sous l'action d'une enzyme : ATP-citrate lyase qui convertit le citrate, ATP et Co-A aux produits acétyl-CoA, ADP et le phosphate inorganique (*Andersen Q.M. et Markham R.K., 2006*).

La biosynthèse des flavonoïdes débute par la condensation de trois molécules de malonyl-CoA et une molécule de 4-coumaoyl-CoA pour obtenir la tétrahydroxychalcone. Cette réaction est catalysée par la chalcone synthase (CHS). Dans certaines espèces, l'action coordonnée de CHS et la NADPH réductase produit la 6-déoxychalcone (l'isoliquiritigénine). Les deux chalcones peuvent être converties en aurones, une sous-classe de flavonoïdes présente dans certaines espèces.

L'étape suivante est catalysée par la chalcone isomérase (CHI), qui induit la fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à la formation de 2S-flavanones : la naringénine et moins communément la liquiritigénine.

Les flavanones représentent le point d'embranchement le plus important dans le métabolisme des flavonoïdes, parce que l'isomérisation de ces composés conduit aux isoflavonoïdes. L'introduction d'une double liaison C₂-C₃ permet la formation des flavones et des flavonols, tandis que l'hydroxylation de la position 3 produit les dihydroflavonols.

Concernant le premier point d'embranchement pour la formation des isoflavonoïdes, deux enzymes interviennent : l'isoflavone synthase (IFS) catalyse la migration du groupement aryle du C₂ au C₃ et l'hydroxylation pour donner la 2-hydroxyisoflavanone. L'hydratation de ce dernier, catalysée par la 2-hydroxyisoflavanone déhydratase (IFD), forme les isoflavonoïdes, la génistéine et la daidzéine. Ces isoflavonoïdes peuvent être métabolisés pour former les phytoalexines ou les roténoïdes (Figure. 11).

Le deuxième point d'embranchement dans le métabolisme des flavonoïdes consiste en la déshydratation de la naringénine aux positions C₂/C₃ pour donner les flavones comme l'apigénine. Cette conversion est catalysée par la flavone synthase (FNS).

Finalement, pour le troisième point d'embranchement, l'hydroxylation stéréospécifique en position C₃ de la naringénine, sous l'action de l'enzyme : la flavanone 3-hydroxylase (FHT), produit les dihydroflavonols comme le dihydrokaempférol.

L'hydroxylation spécifique de la naringénine, grâce à une enzyme : la flavonoïde 3'-hydroxylase (F3'H), peut donner la dihydroquercétine, qui peut être convertie en quercétine (le flavanol) par la flavanol synthase (FLS) catalysant la formation d'une double liaison C₂-C₃. La dihydroquercétine peut être réduite par la dihydroflavonol 4-réductase (DFR) en flavan-3,4-diols.

Les conversions enzymatiques peuvent créer plusieurs groupes de flavonoïdes de structures très diverses. Par exemple, dans les pétales de la fleur, les leucoanthocyanidines (ex : la leucopélagonidine) peuvent être converties en anthocyanine colorée (ex : la pélagonidine) grâce à l'anthocyanidine synthase (ANS) (Figure. 12) (Motohashi N. et Sakagami H., 2009, Buchanan B. et Coll, 2000).

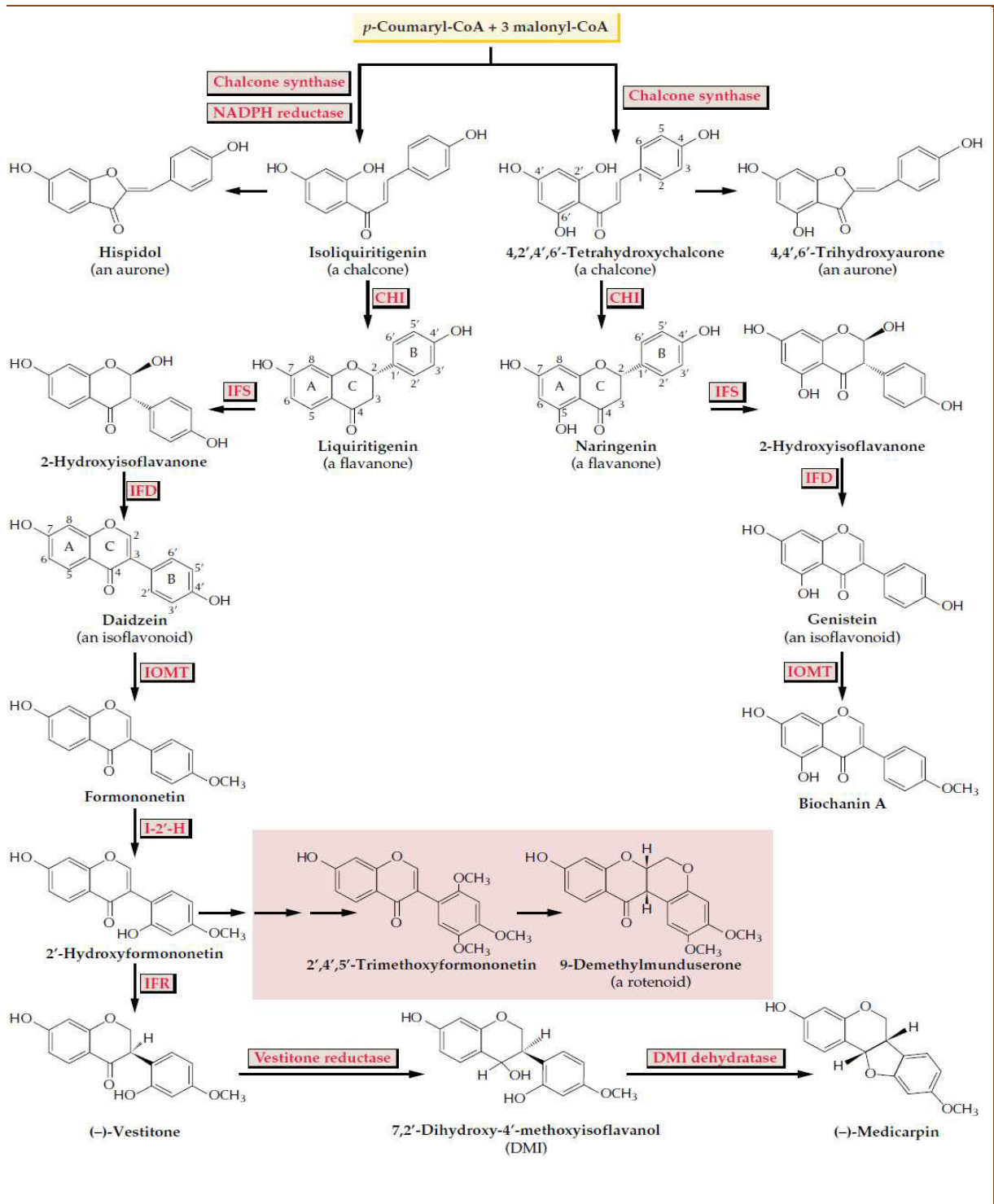


Figure 11. Voies biosynthétiques pour la production des sous-classes spécifiques des flavonoïdes (chalcones, aurones, flavanones et isoflavonoïdes) (Buchanan B. et Coll, 2000)

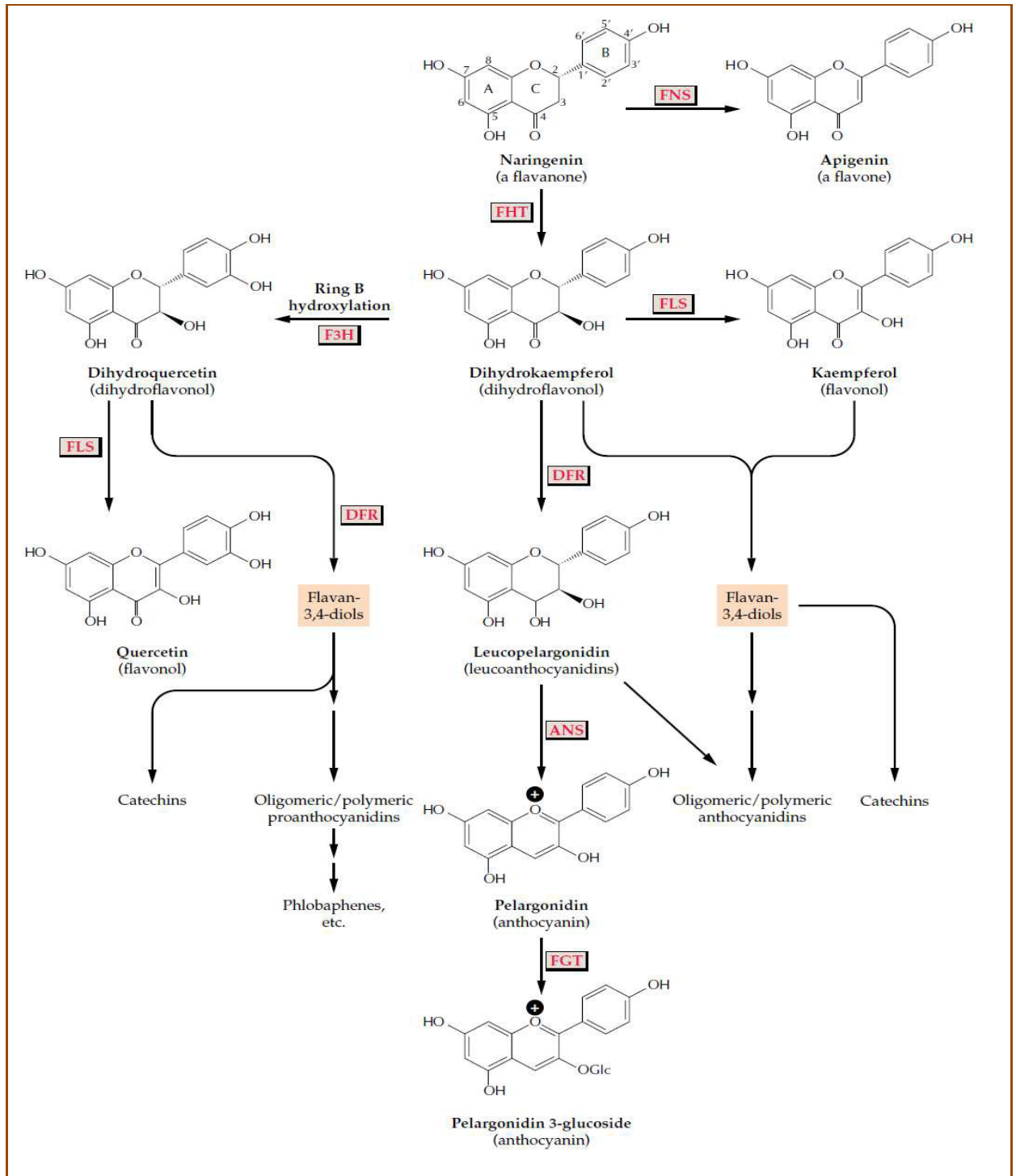


Figure 12. Sélection des réactions enzymatiques importantes dans les flavonoïdes (Buchanan B. et Coll, 2000)

2.5. Flavonoïdes comme antioxydants

La propriété la plus décrite de chaque groupe de flavonoïdes est leur capacité d'agir comme des antioxydants. Les flavones et les catéchines paraissent être les flavonoïdes les plus puissants pour protéger notre organisme contre les espèces oxygénées réactives.

Les cellules et les tissus de notre corps sont, toujours, menacés par les dommages causés par les radicaux libres et les espèces oxygénées réactives, qui sont produites lors du métabolisme de l'oxygène ou qui sont induites par les dommages exogènes.

Les mécanismes de la défense antioxydante du corps incluent les enzymes (la catalase, la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase), mais aussi les contreparties non-enzymatiques (le glutathion, l'acide ascorbique et le α -tocophérol).

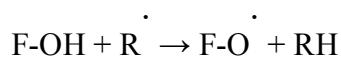
Les flavonoïdes, pouvant avoir un effet additif aux composés de piégeage endogènes, ont la capacité d'augmenter la fonction des antioxydants endogènes (*Nijveldt J.R. et Coll, 2001*).

2.5.1. Relations structure - activité

L'activité antioxydante des flavonoïdes et leurs métabolites dépendent, essentiellement, de l'arrangement des groupements fonctionnels. Des recherches sur les relations structure – activité des flavonoïdes ont mis en évidence le rôle des composés structuraux spécifiques dans le piégeage des radicaux et la chélation.

2.5.1.1. Groupes hydroxyles

L'arrangement spatial des substituants est, probablement, le plus grand déterminant de l'activité antioxydante du squelette de flavane seul. Pour la plupart des antioxydants polyphénoliques, la configuration et le nombre total des groupements hydroxyles influencent les mécanismes de l'activité antioxydante. La capacité de piégeage des radicaux libres est attribuée à la haute réactivité des substituants hydroxyles :



La configuration des hydroxyles du cycle B est le déterminant le plus significatif de piégeage des espèces oxygénées réactives et des espèces réactives de l'azote. Les groupements hydroxyles au niveau du cycle B sont des donneurs d'hydrogène et d'électron aux radicaux peroxydes, hydroxyles et peroxy-nitrite, conduisant à la stabilisation de ces radicaux et donnant, ainsi, des radicaux de flavonoïde stables.

La présence du groupement hydroxyle en position 5 peut, aussi, contribuer à l'activité antioxydante. L'angle de torsion du cycle B influence, fortement, la capacité du piégeage des radicaux libres.

Comparativement à l'exemple donné pour l'hydroxylation du cycle B, l'impact de l'arrangement du cycle A sur l'activité antioxydante est de signification discutable.

Le cycle hétérocyclique des flavonoïdes peut contribuer à l'activité antioxydante, soit par la présence du groupement OH en position 3 (la capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres dépend, fortement, de la présence de ce 3-OH libre), soit par la conjugaison entre les deux cycles aromatiques (*Heim E.K. et Coll, 2002*).

2.5.1.2. O-méthylation

Les différences de l'activité antioxydante entre les flavonoïdes poly-hydroxylés et les flavonoïdes poly-méthoxylés sont dues à la différence de l'hydrophobicité et la planéité moléculaire. La diminution de la capacité antioxydante par la O- méthylation peut s'expliquer par les effets stériques qui modifient la planéité (*Heim E.K. et Coll, 2002*).

2.5.1.3. Double liaison C₂-C₃ et une fonction 4-oxo

Dans un système microsomial, les flavonoïdes ayant une double liaison C₂-C₃ conjuguée avec le groupe carbonyle en position 4 donnent des valeurs de CI₅₀ minimales (une forte activité antioxydante), comparées avec celles des hétérocycles saturés.

Plusieurs recherches indiquent que les flavonoïdes dénués de l'un des deux éléments structurels, ou de l'autre ou des deux en même temps, sont moins actifs que ceux possédant ces deux éléments de structure. La conjugaison des deux cycles A et B permet l'effet de la résonance du noyau aromatique, stabilisant le radical phénoxy de la fonction catéchol, et par conséquent, elle augmente la stabilité du radical de flavonoïde (*Heim E.K. et Coll, 2002*).

2.5.1.4. Présence de carbohydrate

Les aglycones sont des antioxydants plus forts que leurs glycosides correspondants. Dans l'alimentation, les molécules glycosidiques des flavonoïdes se produisent, généralement, en positions 3- ou 7-, mais le sucre lié au cycle A conduit à une forte diminution de l'activité que la 3-glycosylation dans le cycle hétérocyclique. L'influence de la 3- et 7- glycosylation peut être attribuée aux autres considérations structurelles.

Chez l'homme, le rôle des molécules de sucre dans l'optimisation des propriétés antioxydantes est discutable. En effet, la libération du substituant glycosidique par les enzymes entériques ou les bactéries peut conduire à une augmentation de l'activité des flavonoïdes alimentaires *in vivo* (*Heim E.K. et Coll, 2002*).

2.5.2. Différentes voies de mécanismes antioxydantes

Les flavonoïdes peuvent empêcher les dommages causés par les radicaux libres par plusieurs voies : piégeage des radicaux libres, chélation des métaux, activité anti-lipoperoxydation et inhibition de diverses enzymes.

2.5.2.1. Piégeage des radicaux libres

La première voie est le piégeage direct des radicaux libres. Les flavonoïdes sont oxydés par les radicaux, conduisant à la formation du radical plus stable et moins réactif. En d'autres termes, les flavonoïdes stabilisent les espèces oxygénées réactives en réagissant avec les composés réactifs du radical. Les radicaux sont rendus inactifs à cause de la haute réactivité du groupe hydroxyle des flavonoïdes (*Nijveldt J.R. et Coll, 2001*).

2.5.2.2. Chélation des métaux

Les propriétés de chélation des flavonoïdes contribuent à leur activité antioxydante. En libérant et neutralisant des ions de fer dans les hépatocytes, les flavonoïdes peuvent inhiber les dommages oxydatifs.

Dans les systèmes biologiques, les dérivés les plus réactifs des espèces oxygénées réactives sont les radicaux hydroxyles. Le fer ferreux libre est assez sensible à l'oxygène et donne le fer ferrique et le superoxyde, produisant, ainsi, le peroxyde d'hydrogène. La réaction entre le fer ferreux et le peroxyde d'hydrogène produit le radical hydroxyle qui peut, par la suite, oxyder les biomolécules. Dans ce processus connu sous le nom de la réaction de Fenton, la production de radical hydroxyle est en rapport avec la concentration de cuivre ou de fer.

L'oxydation est, fortement, inhibée par les flavonoïdes avec les arrangements 3',4'-catéchol, 4-oxo et 5-OH. La chélation avec les cations divalents peuvent se produire entre 5-OH et 4-oxo, ou entre 3'- et 4'-OH. En raison des propriétés de chélation des métaux et la capacité de piéger les radicaux, les flavonoïdes poly-hydroxylés peuvent offrir un avantage considérable comme des inhibiteurs de la réaction de Fenton *in vivo* (*Heim E.K. et Coll, 2002*).

2.5.2.3. Activité anti-lipoperoxydation

La relation entre la peroxydation lipidique et plusieurs maladies a été établie, surtout dans le cas des maladies cardiovasculaires. L'athérosclérose est initiée par l'oxydation des lipides, présents dans les lipoprotéines de basse densité (LDL). Le risque élevé de cette maladie n'est pas dû,

seulement, à l'hypercholestérolémie, mais aussi à la concentration élevée des particules de LDL oxydées qui forment des bandelettes spumeuses sur l'artère, conduisant au développement des lésions athérosclérotiques. La cytotoxicité de la peroxydation lipidique aux autres tissus comme le foie peut provoquer la maladie du foie et le diabète.

La prise régulière d'une alimentation riche en fruits et légumes peut protéger contre une variété de maladies particulièrement celles liées au système cardiovasculaire et le cancer. Au demeurant, les antioxydants présents dans cette alimentation, inhibant la peroxydation lipidique dans le LDL, limitent l'athérosclérose et ses manifestations cliniques comme l'infarctus du myocarde. La diminution dans l'oxydation du LDL par les composés phénoliques peut prévenir des maladies cardiovasculaires.

La capacité de piégeage des radicaux libres des flavonoïdes est attribuée à leur capacité de donner l'hydrogène. Cette propriété est due à la présence des groupements hydroxyles dans leurs structures. Le nombre et l'arrangement des groupements hydroxyles sur les cycles A et B sont de grande importance dans l'inhibition de la peroxydation des lipides. Les flavonoïdes, ayant un groupe 3-hydroxyle sur le cycle C, sont de forts anti-lipoperoxydation.

La protection de la membrane par les flavonoïdes solubles dans l'eau est, seulement, possible pendant la phase d'initiation de la peroxydation lipidique à cause de leur capacité de régénérer la vitamine E. En revanche, les flavonoïdes solubles dans les lipides empêchent l'oxydation par leur incorporation dans la membrane, en utilisant un antioxydant synthétique soluble dans les lipides (BHT) (*Atmani D. et Coll, 2009*).

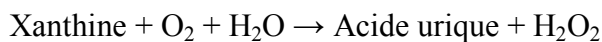
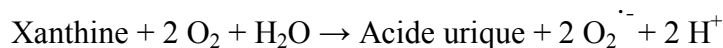
2.5.2.4. Inhibition de diverses enzymes

Plusieurs études indiquent la capacité des flavonoïdes à inhiber plusieurs enzymes, directement, liées au stress oxydatif et à la peroxydation lipidique, telles que : la xanthine oxydase, les lipoxygénases, les cyclooxygénases, NADH oxydase.

La xanthine déhydrogénase et la xanthine oxydase sont impliquées dans le métabolisme de la xanthine en acide urique. La xanthine déhydrogénase est la forme de l'enzyme présente sous les conditions physiologiques, mais sa configuration est changée en xanthine oxydase durant les conditions ischémiques. La xanthine oxydase est la source des radicaux libres de l'oxygène.

L'enzyme : la xanthine oxydase, présente sous forme de traces dans la plupart des tissus humains (le plasma et plus précisément dans le foie et l'intestin), catalyse l'hydroxylation de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique, qui joue un rôle crucial dans la goutte.

Durant la réoxydation de la xanthine oxydase, la molécule d'oxygène agit comme un accepteur d'électron, produisant le radical superoxyde et le peroxyde d'hydrogène :



Il a été démontré que les groupements hydroxyles en position C₅ et C₇, et la double liaison C₂-C₃ sont très importants pour l'activité inhibitrice de la xanthine oxydase. La présence de ces groupements aux positions C₃ et C_{3'} est, aussi, essentielle pour une forte capacité de piégeage du radical superoxyde (*Atmani D. et Coll, 2009, Nijveldt J.R. et Coll, 2001, Cos P. et Coll, 1998, Armstrong D., 2002*).

2.6. Autres activités pharmacologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont considérés comme des composants importants dans notre alimentation, bien qu'ils soient, généralement, considérés comme des éléments non-nutritifs.

La prise des flavonoïdes peut varier entre 50 et 800 mg par jour selon l'alimentation – la consommation des légumes, des fruits, etc. Les différentes plantes médicinales sont, aussi, une autre source des flavonoïdes. Les flavonoïdes sous la forme de glycosides sont faiblement absorbés, ils doivent être hydrolysés par les enzymes bactériennes dans l'intestin, sur lequel leurs aglycones peuvent être absorbés (*Stalikas C.D., 2007*).

Plusieurs études effectuées chez les animaux ont montré les avantages thérapeutiques des flavonoïdes tels que les activités antioxydantes, antiprolifératives, anti-inflammatoires. Ces effets bénéfiques sur la santé peuvent se rapporter aux interactions avec les enzymes clés, en signalant des cascades qui impliquent les cytokines, les facteurs de transcription ou les systèmes antioxydants (*Buer S.C. et Coll, 2010*). Une synthèse bibliographique de quelques travaux concernant les propriétés thérapeutiques des flavonoïdes est présentée dans le tableau 1 (Page 29).

2.7. Absorption, métabolisme des flavonoïdes

Pour élucider le rôle des flavonoïdes alimentaires dans la santé humaine, il est important de savoir les formes qui sont présents dans le plasma et les tissus après l'ingestion de ces flavonoïdes (*Hollman C.H.P., 2004*).

Tableau 1. Quelques activités biologiques des flavonoïdes

Référence	Activités
Sandhar K.H. et Coll, 2011	Effet sur l'ulcère gastrique, l'inflammation, la maladie rhumatismale, la thrombose, le cancer, l'allergie, la dépression, l'activité antimicrobienne, les maladies cardiovasculaires, les diabètes <i>mellitus</i>
González-Gallego J. et Coll, 2007	Activité anti-inflammatoire
Cushnie T.P.T., Lamb J.A., 2005	Activité antimicrobienne (activité antifongique, activité antivirale, activité antibactérienne)
Raj Narayana K. et Coll, 2001	Activité cardiotonique, activité antiulcéreuse, activité hépatoprotective, activité anti-inflammatoire, activité antinéoplasique, effet sur les vaisseaux sanguins, activité antimicrobienne
Manthey J.A., 2000	Effet sur l'inflammation
Fernández P.S. et Coll, 2006	Effet sur le système nerveux central
Birt F.D. et Coll, 2001	Action dans la prévention de la maladie du cancer
Oteiza I.P., et Coll, 2005	Rôle protectif sur la surface de la membrane
Gross M., 2004	Activité anti-athérosclérotique
Youdim K.A. et Coll, 2004	Effet physiologique sur le système nerveux central
Paris D. et Coll, 2011	Effet sur la maladie d'Alzheimer
Ren W. et Coll, 2003	Activité anticancéreuse
Stefek M., 2011	Prévention de la maladie de la cataracte diabétique
Nileeka Balasuriya B.W., Vasantha Rupasinghe H.P., 2011	Activité anti-hypertensive
Nandave M. et Coll, 2005	Rôle protectif dans les maladies cardiovasculaires
Kanadaswami C. et Coll, 2005	Activité anticancéreuse
Terao J. et Coll, 2008	Prévention de la maladie d'athérosclérose et les maladies cardiovasculaires
Middleton E. et Coll, 2000	Effet sur l'inflammation, les maladies du cœur et le cancer

2.7.1. Absorption des flavonoïdes

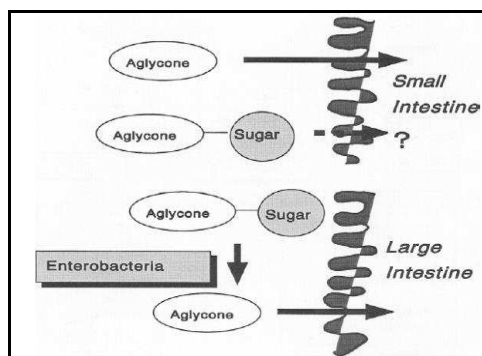


Figure 13. Absorption et métabolisme des aglycones et des glycosides (Packer L. et Coll, 1999)

Avant que les flavonoïdes alimentaires puissent être absorbés par le boyau, ils doivent être libérés par la mastication : une action du suc digestif dans le tractus gastro-intestinal, et finalement les microorganismes du côlon. L'absorption des flavonoïdes libérés dépend de leurs propriétés physico-chimiques telles que le poids moléculaire, la configuration, la lipophilicité, la solubilité et le pKa (Hollman C.H.P., 2004).

Le comportement des flavonoïdes dans le tractus digestif reste encore équivoque. Cependant, la solubilité dans les micelles d'acides biliaires est un important déterminant pour l'absorption intestinale. Les flavonoïdes glycosylés sont, difficilement, absorbés dans l'intestin grêle parce que leur hydrophilicité diminue leur solubilité dans les micelles.

L'activité de la β -glucosidase de la microflore induit l'hydrolyse des glycosides en aglycones dans le gros intestin. Les entérobactéries paraissent être responsables de l'activité de la β -glucosidase. On outre, la partie aglycone est soumise à un coupage du cycle par les entérobactéries. Après une telle conversion, les flavonoïdes sont devenus plus solubles dans les micelles d'acides biliaires (Figure. 13).

Cependant, plusieurs chercheurs ont démontré que les catéchines du thé sont absorbés facilement à cause de l'absence de la partie sucre (les catéchines n'ont aucune partie glycosidique). L'efficacité de l'absorption des flavonoïdes dans le tractus intestinal dépend de leurs structures (Packer L. et Coll, 1999).

2.7.2. Conversion métabolique et circulation entéro-hépatique

Les flavonoïdes absorbés du tractus intestinal sont liés aux molécules d'albumine et ils sont transportés au foie à travers la lymphe ou la veine porte. Ils sont soumis, ainsi que leurs produits de décomposition, aux conversions métaboliques dans le foie, incluant : la méthylation des groupements hydroxyles, la réduction des groupements carbonyles et la conjugaison avec l'acide glucuronique et/ou l'acide sulfurique. Quelques métabolites paraissent être réabsorbés après l'hydrolyse et/ou le coupage du cycle (circulation entéro-hépatique). Donc, une quantité appréciable de flavonoïdes alimentaires peuvent entrer dans la circulation sanguine comme des métabolites par ce mécanisme de la circulation entéro-hépatique. Le foie est le tissu principal pour le métabolisme des flavonoïdes.

Cependant, la muqueuse intestinale, les reins et autres tissus possèdent aussi une activité enzymatique pour métaboliser les flavonoïdes.

Plusieurs études ont montré que les flavonoïdes sont soumis à la glucuronidation dans la muqueuse intestinale comme une première étape de la conversion métabolique sous les conditions normales. Ils entrent dans la veine porte sous la forme conjuguée, après la sulfatation dans le foie et la méthylation dans le foie et les reins, les métabolites sont excrétés du corps par la bile ou l'urine (*Packer L. et Coll, 1999*).

3. Activités biologiques des plantes

3.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante et/ou anti-radicalaire

Ces dernières années, plusieurs méthodes de la détermination de l'activité antioxydante ont été proposées. La majorité de ces tests sont basés sur la mesure de la capacité relative des antioxydants à piéger les radicaux en comparant avec celle d'un antioxydant standard (*Zaporozhets O.A. et Coll, 2004*).

Ces méthodes se basent sur des principes différents : piégeage des radicaux peroxydes : ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-trapping Antioxidant Power), pouvoir de réduction du métal : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) et CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Power), piégeage des radicaux hydroxyles (l'essai au désoxyribose), piégeage des radicaux organiques : ABTS (2,2-Azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) et DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), quantification des produits formés durant la peroxydation lipidique : TRAPS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances). Les procédures les plus, largement, utilisées pour la mesure de l'effet antioxydant sont : FRAP, ABTS, TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), DPPH et ORAC (*Marinova G. et Batchvarov V., 2011*).

Les termes "Activité antioxydante" et "Capacité antioxydante" sont, souvent, utilisés d'une façon interchangeable mais il est très important de savoir qu'il s'agit de deux termes de signification différente. Le terme "Activité" se réfère à la vitesse constante de la réaction entre un antioxydant spécifique et un oxydant spécifique. Autrement dit, l'activité antioxydante traite la cinétique de la réaction entre un antioxydant et un pro-oxydant ou un radical qui est réduit ou piégé. Cette activité serait insignifiante sans les conditions spécifiques de la réaction comme la pression et la température. Tandis que la capacité antioxydante donne une information sur la durée de l'action de l'antioxydant, elle mesure la quantité d'un radical libre donné piégé par l'échantillon. Les mesures de la capacité antioxydante rapportent la quantité d'un mélange hétérogène des antioxydants qui réagissent ensemble

pour produire la capacité piégeur de l'échantillon (*MacDonald-Wicks K.L. et Coll, 2006, Apak R. et Coll, 2013, Karadag A. et Coll, 2009*).

Il y a une différence entre les deux termes "Activité antioxydante" et "Activité anti-radicalaire". L'activité anti-radicalaire caractérise la capacité des composés de réagir avec les radicaux libres, mais l'activité antioxydante représente la capacité d'inhiber le processus d'oxydation. Par conséquent, tous les tests utilisant un radical libre stable (DPPH, ABTS ...) donne une information sur la capacité de piéger le radical (activité anti-radicalaire) bien que dans de nombreux cas, cette activité ne correspond pas à l'activité antioxydante (*Tirzitis G. et Bartosz G., 2010*).

La méthode utilisée pour la mesure de l'activité anti-radicalaire des extraits des deux plantes sélectionnées est la méthode de DPPH. C'est une méthode indirecte la plus ancienne, elle a été suggérée, pour la première fois, dans les années 1950 pour la découverte des donneurs d'hydrogène dans les matières naturelles. Plus tard, le test a été quantifié pour déterminer le potentiel antioxydant des composés phénoliques et des aliments, aussi bien que des échantillons, biologiquement, efficaces (*Roginsky V. et Lissi E.A., 2005*).

Le radical DPPH est l'un des radicaux organiques azotés stables, commercialement disponible, qui porte une couleur violette foncée. La décoloration de ce radical suite à une réaction avec un antioxydant peut être, facilement, suivie par la mesure de l'absorbance à 515-520 nm. L'activité piégeur du radical d'un composé donné ou d'un mélange complexe est évaluée à partir des mesures cinétiques et pour des évaluations stœchiométriques (*Campos A.M. et Coll, 2012, Prior R.L. et Coll, 2005*).

Deux versions ont été suggérées dans le test de DPPH : dynamique et statique. Pour la première version, on mesure le pourcentage de réduction de DPPH[•] observé après l'addition de l'échantillon contenant des composés phénoliques. Dans la version statique, on détermine la quantité de DPPH[•] piégé par l'échantillon testé. Le premier essai caractérise la réactivité, alors que le deuxième détermine la stœchiométrie de la réaction de DPPH[•] avec une substance individuelle donneuse d'hydrogène ou la quantité des groupes -OH actifs dans un mélange complexe. Le potentiel donneur d'hydrogène d'un échantillon testé est, fréquemment, exprimé par CI₅₀ (notée parfois par CE₅₀). Ce paramètre a été proposé, récemment, pour l'interprétation des résultats de la méthode de DPPH. Il est défini comme la concentration du substrat qui cause la réduction de 50% de DPPH[•] initial. Le temps nécessaire pour atteindre le plateau à la concentration de CE₅₀ (T_{CE50}) est, graphiquement, déterminé. Un nouveau paramètre appelé "Efficacité anti-radicalaire" est défini par la relation suivante : (*Molyneux P., 2004, Roginsky V. et Lissi E.A., 2005, Sánchez-Moreno C. et Coll, 1998*).

$$EA = 1/(CE_{50} T_{CE50})$$

Dans cette méthode, l'efficacité antioxydante est mesurée à la température ambiante, en éliminant, ainsi, le risque de la dégradation thermique des molécules testées. Cependant, le mécanisme réactionnel entre le DPPH \cdot et un antioxydant dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. Quelques composés réagissent, rapidement, avec DPPH \cdot , réduisant un certain nombre de molécules de DPPH \cdot selon le nombre de groupes hydroxyles disponibles. Cependant, pour la majorité de composés testés, les réactions sont plus lentes et les mécanismes semblent être plus complexes (Bondet V. et Coll, 1997).

La réaction entre le DPPH \cdot et un antioxydant se fait en deux étapes, dans la première étape, l'antioxydant donne un hydrogène le plus labile au radical DPPH \cdot :



Dans la deuxième étape, le radical formé dans la réaction (1) attaque une nouvelle molécule de DPPH dans la position para du substituant phényle :



Deux mécanismes peuvent intervenir : un mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène (HAT : H-atom transfer) et un mécanisme séquentiel déprotonation – transfert d'électron (SPLET : sequential proton loss and electron transfer). Le premier est basé sur un transfert direct de l'atome d'hydrogène de l'antioxydant vers le radical DPPH \cdot , cette réaction est plus rapide dans les solvants non-polaires. Le deuxième est basé sur un transfert d'électron du phénol ionisé de l'antioxydant vers le radical DPPH \cdot (Figure. 14).

D'autres mécanismes ont été mentionnés dans la littérature comme : PCET (proton-coupled electron-transfer), ET-PT (electron-transfer proton-loss) (Volkov V.A. et Coll, 2009, Foti M.C. et Coll, 2008).

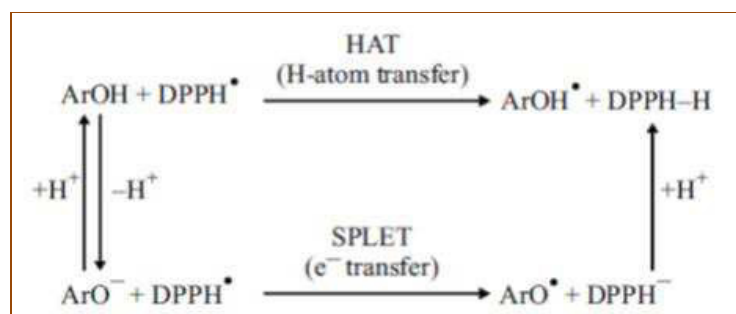


Figure 14. Réaction entre le DPPH \cdot et un antioxydant phénolique selon les deux mécanismes HAT et SPLET

(Volkov V.A. et Coll, 2009)

Le test de DPPH est, techniquement, simple et rapide et nécessite un spectrophotomètre UV-Visible. Ces avantages pourraient expliquer, probablement, son utilisation répandue dans la sélection des antioxydants.

Il y a quelques inconvénients qui limitent l'application de cette méthode. Le DPPH peut être, seulement, dissout dans les solvants organiques (surtout les solvants alcooliques) et non pas dans les solvants aqueux, qui est une importante limitation en interprétant le rôle des antioxydants hydrophiles. Bien que le test de DPPH est, largement, utilisé pour la mesure et la comparaison du potentiel antioxydant des composés phénoliques et des aliments ; l'évaluation de la capacité antioxydante par le changement de l'absorbance de DPPH doit être, soigneusement, déterminée en raison de la diminution de l'absorbance de DPPH à 517 nm, après sa réaction avec un antioxydant, par la lumière, l'oxygène et le type du solvant (*Karadag A. et Coll, 2009*).

La molécule de DPPH ne porte aucune similarité aux radicaux peroxydes, hautement, réactifs impliqués dans la peroxydation lipidique. Ainsi, plusieurs antioxydants pouvant réagir, rapidement, avec les radicaux peroxydes *in vivo*, peuvent réagir lentement ou peuvent, même, être inertes au DPPH. La cinétique de la réaction entre le DPPH et les antioxydants n'est pas proportionnelle à la concentration de DPPH. Donc l'expression de la capacité antioxydante, utilisant le paramètre CE_{50} est problématique. De plus, l'interprétation des résultats est compliquée s'il y a un chevauchement des spectres des composés testés et du DPPH à 515 nm (exemple : les caroténoïdes). Enfin, la réaction entre DPPH et l'eugénol est réversible. La capacité antioxydante des échantillons contenant l'eugénol ou d'autres phénols dont la structure est semblable, est faussement, basse (*Prior R.L. et Coll, 2005, Karadag A. et Coll, 2009*).

3.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

Plusieurs recherches ont été concentrées sur l'investigation des produits naturels comme une source de nouvelles molécules bioactives antimicrobiennes pour traiter les maladies infectieuses. Quelques méthodes ont été mentionnées pour ce but ; les résultats seront fortement influencés, non seulement, de la méthode choisie mais aussi des microorganismes sélectionnés et le degré de solubilité de chaque composé testé. Ces tests devraient être simples, rapides, reproductibles et peu coûteux.

Trois méthodes, actuellement, disponibles pour la détection de l'activité antimicrobienne des produits naturels ont été sélectionnées, y compris des méthodes bio-autographiques, des méthodes de diffusion et des méthodes de dilution. Les méthodes bio-autographiques et les méthodes de diffusion peuvent être définies comme des techniques qualitatives puisqu'elles donnent, uniquement, une idée sur la présence ou l'absence des substances antimicrobiennes. D'autre part, les méthodes de dilution

sont considérées comme des techniques quantitatives déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Valgas C. et Coll, 2007).

On utilise, habituellement, pour cultiver les bactéries des complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de gélose, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et de se solidifier à des températures inférieures à 40°C.

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent, homogène. Sur un milieu solide, les bactéries se déposent à la surface. Lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visibles à l'œil nu, que l'on appelle "colonie" (si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe).

L'emploi de milieux solides permet, ainsi, le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon. Il suffit, en effet, pour cela d'étaler sur des milieux solides (gélifiés) un volume connu de différentes dilutions de l'échantillon et de compter les colonies obtenues avec la dilution adéquate. Un autre intérêt des milieux solides est qu'ils permettent d'apprécier la morphologie des colonies qui peut varier selon les espèces bactériennes (Nauciel C. et Vildé J.L., 2005).

3.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antidiabétique

Aujourd'hui, le diabète *mellitus* est considéré comme l'un des principaux problèmes de santé dans le monde entier. Les modèles animaux expérimentaux constituent les meilleures stratégies pour la compréhension de la pathophysiologie de n'importe quelle maladie afin de développer les médicaments de traitement de cette maladie. Pendant quelques dernières décennies, de nombreux modèles animaux ont été développés pour étudier le diabète *mellitus* et tester les agents antidiabétiques, qui incluent des manipulations chimiques, chirurgicales et génétiques (Ankur R. et Shahjad A., 2012).

Un modèle animal pour la recherche biomédicale est celui dans lequel la biologie ou le comportement peuvent être étudiés, ou dans lequel un processus pathologique spontané ou induit peut être examiné ou dans lequel le phénomène ressemble à celui des humains ou d'autres animaux. Les modèles animaux peuvent être classés en cinq groupes : a) les modèles spontanés où la maladie ou ses conditions se produisent, spontanément, chez les animaux comme chez les humains. b) les modèles expérimentaux. c) des modèles génétiquement modifiés dans lesquels la maladie ou ses conditions sont induites, respectivement, chimiquement et chirurgicalement ou par manipulation génétique. d) les modèles négatifs, y compris les animaux résistants à une condition ou une maladie particulière. e) les

modèles orphelins, y compris des modèles animaux atteints de la maladie inconnue aux homologues humains (*Chatzigeorgiou A. et Coll, 2009*).

Le diabète de type I touche, seulement, 10% de tous les cas de diabète. Les personnes touchées par cette maladie ont besoin des injections quotidiennes de l'insuline. Le diabète de type I résulte de l'infiltration inflammatoire des îlots de Langerhans et de la destruction sélective des cellules β productrices de l'insuline. Ce type de diabète se produit, souvent, chez les personnes souffrant d'autres maladies auto-immunes de l'intestin et de la thyroïde. Il est, fortement, associé au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH_I), amélioré par l'immunosuppression (*Mordes J.P. et Coll, 2004*).

Cinq modèles animaux de diabète spontané sont, essentiellement, utilisés pour l'étude de diabète auto-immune : la souris NOD (Non Obese Diabetic), le rat BB (Bio-Breeding), le rat LETL (Long Evans Tokushima Lean), le rat KDP (Komeda Diabetes Prone) et le rat LEW-iddm. La souris NOD et le rat BB sont les, plus largement, utilisés (*Chatzigeorgiou A. et Coll, 2009*).

La pathogénie du diabète de type II est très complexe. Elle implique le développement progressif de la résistance d'insuline dans le foie et les tissus périphériques, accompagné par une sécrétion de l'insuline défectueuse des cellules β pancréatiques conduisant à une hyperglycémie (un taux élevé anormal de glucose dans le sang). En raison de l'interaction complexe entre les gènes et entre les facteurs génétiques et environnementaux, l'analyse génétique de diabète est difficile et mal étudiée chez l'homme. De plus, la recherche sur le diabète chez les humains est entravée par des considérations éthiques évidentes, parce que la provocation de la maladie est, strictement, interdite chez l'homme. Les modèles animaux de diabète sont, donc, utiles et avantageux dans les études biomédicales parce qu'ils offrent de nouvelles connaissances sur le diabète humain. Les modèles animaux consanguins, dans lesquels la structure génétique est homogène et les facteurs environnementaux peuvent être contrôlés, sont très importants dans la dissection génétique des maladies multifactorielles (*Srinivasan K. et Ramarao P., 2007*).

Comme pour le diabète de type I, plusieurs animaux ont été utilisés pour l'étude de diabète de type II, parmi lesquels : des modèles de rongeurs obèses (la souris *ob/ob*, la souris *db/db*, le rat Zucker *fa/fa*), des modèles des rongeurs non-obèses (le rat *Goto-Kakizaki*, la souris mutante non-obèse C57BL/6 Akita) (*Chatzigeorgiou A. et Coll, 2009*).

La streptozotocine et l'alloxane sont les produits chimiques diabétogènes les plus importants pour la recherche sur le diabète. Ce sont les analogues de glucose cytotoxiques. Bien que leur cytotoxicité est réalisée par différentes voies, leurs mécanismes de l'action sélective des cellules β sont identiques (*Lenzen S., 2008*).

Les effets cytotoxiques de l'alloxane sont dus à son produit de réaction réduit, l'acide dialurique, et à la production d'espèces oxygénées réactives (EOR) (génération de radicaux superoxydes O_2^- , peroxydes d'hydrogène H_2O_2 et hydroxyles OH. La streptozotocine exerce sa toxicité grâce à une activité d'alkylation de l'ADN. La glycosylation des protéines est un facteur délétère supplémentaire. L'ADP ribosylation est alors sur-stimulée, ce qui entraîne une baisse de NAD^+ cellulaire, du stock d'ATP et conduit à la mort des cellules bêta et de toutes les cellules porteuses du transporteur GLUT2 (cellules du rein et du foie) (Wattiez A.S. et Coll, 2012).

Ces deux composés exercent leurs actions diabétogéniques quand ils sont administrés par voie parentérale, intraveineuse, intrapéritonéale ou sous-cutanée. La dose exigée pour induire le diabète dépend des espèces animales, la voie d'administration et l'état nutritionnel (Fröde T.S. et Medeiros Y.S., 2008).

En général, à l'aide de ces modèles de diabète induits par des composés chimiques, la plupart des études publiées rapportent le pourcentage de réduction de la glycémie dans le sang qui est, toujours, évalué après une période de jeûne suivie du traitement aiguë ou chronique par un produit naturel spécifique. Les études comparatives sont réalisées sur des groupes d'animaux diabétiques et non-diabétiques, traités par des agents antidiabétiques connus, mais les résultats ne permettent pas de savoir le mécanisme d'action du produit naturel étudié (Eddouks M. et Coll, 2012).

En raison de l'action non-spécifique des composés isolés des extraits de produits naturels, des études ont proposé des protocoles *in vitro* supplémentaires, autres que ceux *in vivo*, tels que la perfusion du foie (pour évaluer l'inhibition de l'afflux de glucose), les méthodes d'absorption gastro-intestinale, les systèmes enzymatiques antioxydants, ainsi que le niveau de glycogène dans le foie. Ces protocoles contribuent à l'analyse des effets antidiabétiques de certains produits naturels (Eddouks M. et Coll, 2012).

4. Description des plantes étudiées

4.1. Etude bibliographique de l'espèce *Artemisia arborescens* L. (Asteraceae)

4.1.1. Famille des *asteraceae*

La famille des *asteraceae* (anciennement appelées *compositae*) est la plus vaste de toutes les plantes à fleurs, environ 1000 genres et 19000 espèces, soit près du 1/10 des Angiospermes. Ce sont des plantes dicotylédones cosmopolites, caractérisées par leurs inflorescences en capitule.

Plantes vivaces, annuelles ou bisannuelles, elles sont généralement herbacées ou sublignes dans les régions tempérées, arbustives ou arborescentes dans les régions tropicales (*Vernonia*). Les formes en coussinet (*Catananche* des régions méditerranéennes, *Raoulia* de Nouvelle-Zélande et de Tasmanie) ou lianescentes (*Mutisia*) sont rares. Dans les hautes montagnes tropicales, au-dessus de 3000 m, se rencontrent les *asteraceae* géantes portant de volumineuses inflorescences terminales : *Espeletia* dans les Andes, *Dendro senecio* en Afrique. Ces derniers atteignent de 8 à 10 mètres de haut. Il en existe une vingtaine d'espèces dont la localisation stricte dépend de l'altitude, de l'exposition des versants ou même des montagnes (*Encyclopaedia universalis, 1968, Roland J.C., et Coll, 2008*).

Les *asteraceae* constituent un ensemble homogène, défini par l'inflorescence : le capitule. Cet axe aplati, conique ou en dôme, entouré d'un involucre, porte des fleurs sessiles, cependant de nombreuses variations l'affectent : taille, forme, structure.

Les capitules sont : soit solitaires et de grande taille (du dm au cm) comprenant un grand nombre de fleurs, plusieurs milliers chez l'*Helianthus*, plusieurs centaines chez la marguerite, ou quelques dizaines chez le salsifis ; soit au contraire de taille modeste (du cm au mm) ne comprenant que quelques fleurs (achillée millefeuille), parfois deux (*Xanthium*) ou une seule (*Echinops*, *Ambrosia*), et souvent groupés en inflorescences diverses : épis (armoïse), grappes simples (chicorée), ou ramifiées (*Vernonia*, verge d'or), corymbes (achillée millefeuille, eupatoire), fausse ombelle (tanaïsie), cymes diverses ou capitules (*Echinops*, edelweiss).

L'involucre est formé de bractées vertes, rarement colorées (certains *Cirsium*, *Vernonia*), scarieuses ou à marge scarieuse (marguerite), libres ou soudées ; elles sont épineuses chez les bardanes et les chardons, charnues chez l'artichaut.

La disposition des fleurs hermaphrodites, unisexuées ou stériles, tubuleuses ou ligulées, engendre diverses combinaisons : les capitules sont homogames si toutes les fleurs composantes sont du même type, c'est-à-dire hermaphrodites tubuleuses (eupatoire, bardane) ou ligulées (chicorée), ou toutes unisexuées (*ambrosia*). Ils sont hétérogames si les fleurs sont différemment sexuées, celles-ci pouvant être tubuleuses, de forme identique ou non (bleuet, centaurée), ou encore les unes tubuleuses, les autres ligulées (marguerite, tournesol).

Les fleurs, de couleurs très variables (roses, bleues, blanches, rouges, orange mais très souvent jaunes), s'insèrent à l'aisselle de bractées (dahlia) souvent réduites à des poils ou des écailles (tournesol) ; ces bractées peuvent être absentes comme chez la pâquerette.

Le calice forme un bourrelet, des écailles (tanaïsie, chrysanthème) ou des poils constituant une aigrette, le *pappus* (*Senecio*, *Aster*) ; la corolle est tubuleuse, régulière, ligulée (*Cichorium*, souci) ou bilabiée (*Gerbera*) ; les étamines s'ornent d'appendices divers ; les stigmates filiformes lamelleux ou

renflés portent des poils ramoneurs à la base, au sommet ou sur les bords (Figure.15) (*Encyclopaedia universalis, 1968*).

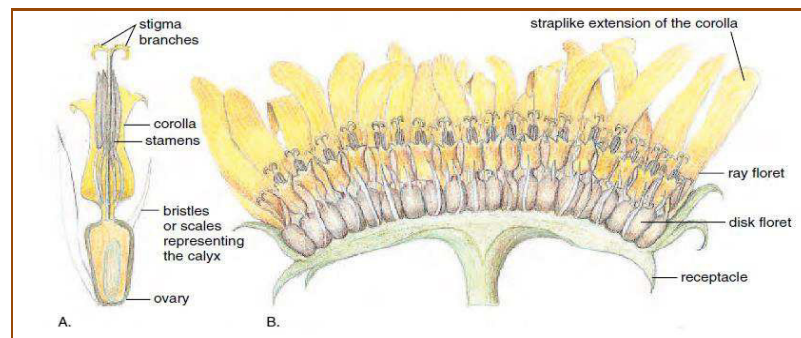


Figure 15. A. Schéma d'un seul fleur. B. Schéma d'une inflorescence (*Stern K.R, et Coll, 2003*)

Le fruit est achène très variable. Le calice persistant constitue, lorsqu'il est épineux (*Bidens*) ou plumeux (pappus des pissenlits) un organe de dissémination.

Les feuilles, alternes ou opposées, sont toujours simples, entières ou diversement découpées (tanaisie, achillée millefeuille). Elles sont parfois épineuses ainsi que les tiges (divers chardons : carline, *Cnicus*, *Cirsium*, *Carduus*, *Oropogon*) (*Encyclopaedia universalis, 1968*).

4.1.2. Genre *Artemisia*

Artemisia est le genre le plus largement distribué dans la famille des *asteraceae*. Il comprend 200 à plus de 400 espèces. Ce sont des herbes ou petits arbrisseaux, fréquemment aromatiques. Plusieurs espèces du genre *Artemisia*, riches en huiles essentielles et en métabolites secondaires, ont une importance médicinale et sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement d'un grand nombre de maladies et plaintes grâce à ses propriétés pharmacologiques : anti-malarique, antivirale, antipyrétique, antihémorragique, anticoagulant, anti-angineux, antioxydant, anti-hépatique, antispasmodique, anti-complémentaire, emménagogue, diurétique, hypoglycémique, fébrifuge, antirhumatismale. (*Colin W. Wright, 2002, Baykan Erel S. et Coll, 2012, El Beyrouthy M. et Coll, 2011, Mirjalili M.H. et Coll, 2007, Ahameethunisa A.R. et Hopper W., 2010*).

Les espèces du genre *Artemisia* sont réparties à travers l'hémisphère Nord. Plus d'une dizaine d'espèces ont été déterminées en Algérie. Certaines sont rares et disséminées en haute montagne, ou cantonnées dans certaines limites. D'autres sont au contraire particulièrement abondantes et répandues sur de grandes étendues. Leur détermination n'est pas délicate, d'autant qu'elles sont, pour la plupart, vivaces et aromatiques (*Baba Aissa F., 1999*).

4.1.3. Espèce *Artemisia arborescens* L.

Sous-arbrisseau aromatique blanchâtre, de 0.40 à 1m, à tiges ligneuses ; feuilles blanchâtres soyeuses, divisées en languettes étroites, une à trois pennatiséquées ; inflorescences en petits capitules globuleux, jaune-paille, disposés en grappes dressées, feuillées ; fruits en forme d'akènes glanduleux (Figure.16)

Espèce méditerranéenne commune dans les terrains rocaillieux du littoral, rare en dehors de l'Atlas (*Baba Aissa F., 1999*).



Figure 16. *Artemisia arborescens* L. (Source : <http://www.tela-botanica.org>, <http://www.jardipedia.com>)

Dans la médecine traditionnelle, les feuilles de *A. arborescens* L. sont utilisées en cas de l'indigestion causée par la gastralgie. Elles sont connues par ses propriétés antifébrile, antiseptique, emménagogue (*Lamharrar A. et Coll, 2007*).

L'infusion des feuilles de *A. arborescens* L. possède, aussi, des vertus médicinales: hypoglycémique, hypotensive, antidote, antimicrobienne, alors que l'infusion des parties aériennes est utilisée comme hypoglycémique, antiseptique, tonique, antihelminthique, emménagogue, diurétique, antispasmodique (*Bnouham M. et Coll, 2002*).

Les fleurs de *A. arborescens* L. sont connues par des activités pharmacologiques comme : digestive, stimulante, expectorante (*Tiwari S., 2008*).

4.1.4. Travaux antérieurs sur l'espèce *Artemisia arborescens* L.

D'après la recherche bibliographique détaillée, l'huile essentielle de l'espèce *A. arborescens* L. a fait l'objet de plusieurs recherches. L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *A. arborescens* L. provenant des USA a permis d'identifier une vingtaine de composés représentant un

pourcentage d'identification de 99.09%. Les composés majoritaires sont : chamazulène (39.60%) **4**, camphre (16.71%) **5**, germacrène D (7.15%) **6**, myrcène (5.05%) **7**, β -caryophyllène (3.56%) **8** (*Pappas R. et Sheppard-Hanger S., 2000*).

Quarante-trois composés ont été détectés dans l'huile essentielle de *A. arborescens* L. récoltée au Liban parmi lesquels β -thujone (68.5%) **9**, chamazulène (12.3%) les plus abondants (*El beyrouthy M. et Coll, 2011*).

L'huile essentielle de la plante *A. arborescens* L. collectée au Turquie est caractérisée par sa richesse en camphre (33.39%), chamazulène (21.05%) (*Baykan Erel S. et Coll, 2012*).

Les travaux de Fransesco L. et Coll (2006), Militello M. et Coll (2011) sur l'huile essentielle de *A. arborescens* L. récoltée de deux régions d'Italie (Sardaigne et Sicile) ont montré, respectivement, la présence de β -thujone (23.97%, 45.04%), camphre (35.73%, 6.78%), et chamazulène (7.66%, 22.71%).

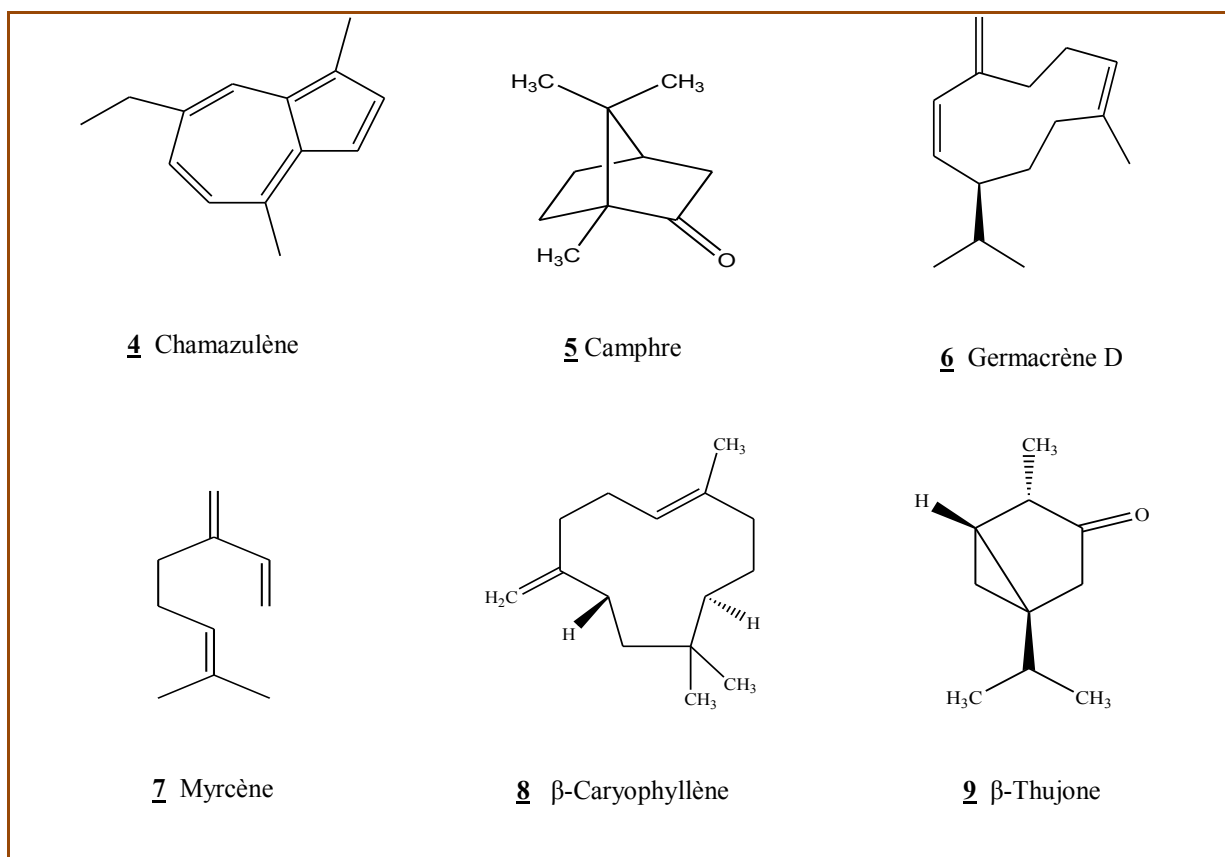


Figure 17. Principaux constituants de l'huile essentielle de *Artemisia arborescens* L.

Une autre étude sur l'huile essentielle de *A. arborescens* L., provenant de trois stations de Sud de L'Italie (Sicile, Calabre et l'Ile de Lipari), a été réalisée par Lo Presti M. et Coll (2007). Les

composés majoritaires sont respectivement: camphre (21.4%, 39.5%, 20.1%) et chamazulène (37.6%, 27.1%, 34.6%).

L'huile essentielle d'origine marocaine est composée, principalement, de β -thujone (30.06%), camphre (21.67%), myrcène (9.10%). Le chamazulène (1.45%) est présent en faible quantité (*Pappas R. et Sheppard-Hanger S., 2000*).

En Algérie, une seule étude sur l'huile essentielle de *A. arborescens* L. a été effectuée par Abderrahim A. et Coll (2010) conduisant à l'identification de deux composés majoritaires : chamazulène (30.2%) et β -thujone (27.8%).

Plusieurs études ont été menées sur les activités pharmacologiques de l'espèce *A. arborescens* L. Les travaux de Saddi M. et Coll (2007) ont montré une activité antivirale de l'huile essentielle *in toto* contre les virus de l'herpès simplex de type 1 et 2 (HSV-1, HSV-2).

Le mode d'action de l'huile essentielle comme agent antiherpétique est, particulièrement, intéressant dans la désactivation et l'inhibition de la diffusion du virus de l'herpès.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *A. arborescens* L. a été évaluée contre quelques souches bactériennes (*Enterobacter* spp, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*). Toutes les bactéries à gram négatif (*Enterobacter* spp et *Salmonella* spp) étaient insensibles à l'huile essentielle. Cependant, une inhibition intéressante a été observée avec *Listeria monocytogenes* (*Militello M. et Coll, 2011*).

Une autre étude a été réalisée par Baykan Erel S. et Coll (2012) sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de *A. arborescens* L. Dans cette étude, huit bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* ATCC 29998, *Escherichia coli* ATCC 11230, and *Salmonella typhimurium*) et un fongif (*Candida albicans*) ont été utilisés.

Les résultats montrent que *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* sont fortement inhibées par l'huile essentielle avec des diamètres d'inhibition, respectivement, de 14 mm et 18 mm. D'autre part, *Pseudomonas aeruginosa* est inhibée par l'extrait méthanolique avec un diamètre d'inhibition de 21 mm (*Baykan Erel M. et Coll, 2012*).

Les travaux d'Al-Momani W. et Coll (2007) ont montré que l'extrait méthanolique de *A. arborescens* L. possède une activité thérapeutique contre les espèces de Mycoplasmes.

4.2. Etude bibliographique de l'espèce *Cardaria draba* (L.) Desv. (Brassicaceae)

4.2.1. Famille des *brassicaceae*

Les *brassicaceae* (nommées aussi *cruciferae*) constituent une importante famille de plantes dicotylédones représentée dans le monde entier, mais principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord. Elles peuplent la presque totalité des habitats et des milieux de vie possibles : sables et rochers maritimes, bords de ruisseaux, talus calcaires, pelouses humides ou sèches, cultures et jardins, bords de chemins, cailloutis et prairies de montagne...

Les espèces de la famille des *brassicaceae* (4000 espèces appartenant à environ 350 genres) ont presque toutes la même formule florale et des fruits du type de la silique. Ce sont des plantes herbacées à racine pivotante, dont les tiges portent des feuilles sans stipules, alternes ou toutes à la base. Elles élaborent des sénevolts de types variés, qui leur donnent des propriétés médicinales et alimentaires.

Les grappes, de type indéfini, n'ont pas de bractée. Le périanthe comporte des pièces non soudées : quatre sépales et, en alternance, quatre pétales (corolle dialypétale). Six étamines forment l'androcée, et deux carpelles le pistil qui, après fécondation et maturation, devient une silique.

Le plan de la fleur, son diagramme, apparaît simple et peu variable dans la famille, mais cette simplicité cache en fait une grande complexité. Des anomalies permettent diverses hypothèses : ainsi, la fleur actuelle des *brassicaceae* résulterait de la contraction de plusieurs fleurs ou inflorescences primitives ; mais cette interprétation reste discutée.

Homogénéité ne signifie pas uniformité, puisqu'on distingue 4000 espèces. C'est la silique qui offre le plus de variations, à tel point que l'on ne peut déterminer avec certitude une *brassicaceae* sans en voir le fruit.

A partir d'un fruit qui reste fondamentalement une silique, toutes les variations sont possibles ; variations dans la taille, la forme, le gabarit, l'ornementation, la déhiscence. Il y a des siliques à section ronde (*Brassica*), plate (*Cardamine*) ou quadrangulaire (*Barbarea*). Il y en a de longues (moutarde, chou), de courtes (*Nasturtium*, *Aubrietia*, *Roripa*), de très courtes, appelées alors silicules (*Capsella*, *Draba*, *Iberis*, *Biscutella*, etc.). Certains fruits sont poilus, diversement nervurés, d'autres ont des ailes ou divers appendices plus ou moins ajourés ; quelques-uns sont incomplètement déhiscent (*Erucaria*) et d'autres ne le sont pas du tout (*Raphanus*, *Crambe*, *Cakile*...). Ce sont des formes un peu aberrantes (*Encyclopaedia universalis*, 1968).

La famille comprend de nombreuses plantes comestibles importantes, avec comme plantes alimentaires proprement dites *Capparis spinosa* (le câprier), *Raphanus sativus* (le radis), *Brassica oleracea* (les choux verts, rouges, blancs, brocoli, chou-fleur, chou de Bruxelles, chou rave) et *B. rapa* (le navet), et des plantes condimentaires comme *Brassica juncea* (la moutarde de chine), *B. nigra* (la moutarde noire), *Sinapis alba* (la moutarde blanche) et *armoracia rusticana* (le raifort). La famille renferme, aussi, un bon nombre de plantes ornementales, telles *Cleome*, *Hesperis*, *Erysimum*, *Iberis*, *Lunaria*, *Lobularia*, *Aurinia* et *Arabis*. Les mauvaises herbes sont également fréquentes, comme *Capsella*, *Descurainia*, *Lepidium* et *Sisymbrium*.

Les *Brassicaceae* constituent la plus grande famille de l'ordre des *Brassicales*, caractérisé par la présence de glucosides sulfurés. Lorsque ces hétérosides sont mis en présence de myrosine (produite dans des cellules sphériques spécialisées) ils sont hydrolysés et dégagent des essences sulfurées à odeur caractéristique forte et désagréable (Judd W.S. et Coll, 2002).

Plusieurs plantes appartenant à cette famille ont été utilisées comme antidiabétique, antibactérienne, antifongique, anticancéreuse, antirhumatismale et ont montré des effets insecticides (Radwan H.M. et Coll, 2007).

4.2.2. Genre *Cardaria* (= *Lepidium*)

Le genre *Lepidium* est le genre le plus grand de la famille des *Brassicaceae* qui comprend environ 175 espèces. C'est un genre cosmopolite regroupant de plantes herbacées annuelles ou vivaces réparties dans le monde entier.

Le genre *Lepidium* L. est distribué, principalement, dans les régions tempérées et subtropicales. Il est peu abondant dans les régions alpines et tropicales (25 espèces dans l'Amérique du Nord et l'Amérique Centrale, 37 espèces dans l'Amérique du Sud, 47 espèces dans l'Australie, la nouvelle Guinée, la nouvelle Zélande, 22 espèces dans l'Afrique et le reste dans l'Europe, l'Asie et les îles Hawaïennes (Munro D.B. et Small E, 1998, Bona M., 2012, Mummenhoff K. et Coll, 2001, Martínez-Nieto M.I. et Coll, 2012).

4.2.3. Espèce *Cardaria draba* (L.) Desv.

Plante rudérale, vivace de 20 à 50 cm, poilue ou non, fortement rhizomateuse, croit dans les décombres, les friches, les bords des chemins, les prairies ensoleillées, circum et subméditerranéenne. Ses tiges raides hautes de 30 à 40 cm portent de nombreuses feuilles de la base, de couleur vert-grisâtre, grandes (3.7 à 7.6 cm de long), pétiolées, pointues et dentées. En mars-juin, de petites fleurs blanches, de 5 mm, très nombreuses couvrent l'extrémité des tiges. Le fruit est petit, 4 mm, plus large

que long, en cœur à la base, et porte un bec terminal court (Lemoine C., 2005, Polese J.M., 2007, Stace C.A., 2010, Rollins R.C., 1993, Kaufman S.R. et Kaufman W., 2007).



Figure 18. *Cardaria draba* (L.) Desv (Source: www.ruilig.altervista.org_ar.wikipedia.org)

4.2.4. Travaux antérieurs sur l'espèce *Cardaria draba* (L.) Desv.

Peu de travaux ont été menés sur la chimie et la pharmacologie de l'espèce *C. draba* (L.) Desv. Afsharypuor S. et Jamali M. (2006) ont contribué à l'étude des constituants volatils de la partie aérienne fleurie, des fruits et des racines de l'espèce *C. draba* (L.) Desv.

Les composés volatils majoritaires des parties aériennes sont : 3- butényl isothiocyanate (80.5%), 4- méthylsulfanylbutyl isothiocyanate (5.6%) **10**. Les fruits sont caractérisés par leur richesse en 4- méthylsulfanylbutyl isothiocyanate (72.1%), heptadécane (7.0%), hexadécane (6.8%), octadécane (5.8%). Les racines sont riches en 4- méthylsulfanylbutyl isothiocyanate (30.0%), acide hexadécanoïque (24.1%), isobutyl isothiocyanate (14.3%), 3- butényl isothiocyanate (5.9%), et α - pinène (5.4%).

En 2011, Radonic A. et Coll ont analysé les constituants volatils par CG/FID et CG/SM. Les composés majoritaires sont : 4-(méthylsulfanyl) butyle isothiocyanate (28%) **11** et 5-(méthylsulfanyl) pentanenitrile (13.8%) **12**, acide hexadécanoïque (10.8%), phytol (10.2%), phtalate de dibutyle (4.5%).

L'activité antimicrobienne de ces produits volatils a été testée vis-à-vis différents microorganismes : quatre bactéries à gram positif (*Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*), quatre bactéries à gram négatif (*Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*), une levure (*Candida albicans*), et deux champignons (*Penicillium sp.* et *Rhizopus stolonifer*).

Les résultats montrent une bonne activité antimicrobienne des composés volatils de *C. draba* (L.) Desv. contre toutes les souches bactériennes testées avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 10.2 à 32.4 mm.

Une inhibition intéressante a été observée, principalement, avec les bactéries à gram négatif (des concentrations minimales inhibitrices CMI entre 4 et 16 mg/ml) et la bactérie à gram positif *Staphylococcus aureus* (CMI de 4.0 mg/ml) (Radonic A. et Coll, 2011).

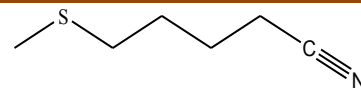
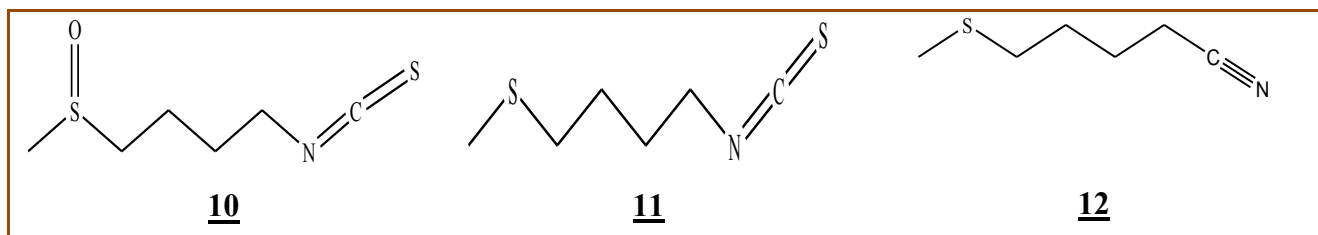


Figure 19. Composés volatils majoritaires de l'espèce *Cardaria draba* (L.) Desv.

Chapitre II

Partie expérimentale

Résumé : Dans cette partie sont détaillées les expérimentations appliquées dont les objectifs ont été indiqués dans l'introduction en expliquant le principe de chaque méthodologie effectuée. Les principaux points exposés sont les suivants :

- Les données géographiques et expérimentales de la récolte des plantes sélectionnées (Page 48).
 - L'extraction des huiles essentielles des deux plantes par la méthode d'hydrodistillation (Page 49).
 - L'analyse chimique des huiles essentielles par les techniques de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM) (Page 51).
 - L'extraction solide-liquide des plantes choisies à l'aide d'un appareil de type de Soxhlet (Page 52).
 - Le dosage des polyphénols par la méthode de Folin – Ciocalteu (F-C) (Page 53).
 - Le dosage des flavonoïdes par la méthode de chlorure d'aluminium (Page 54).
 - L'évaluation de l'activité antibactérienne par le test de diffusion sur Agar (Page 55).
 - La détermination de l'activité anti-radicalaire par la méthode de DPPH (Page 55).
 - La recherche de l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la plante *A. arborescens* L. (Page 57)
-

1. Cueillette et conservation des plantes

Dans un premier temps, la partie aérienne de la plante *A. arborescens* L. a été récoltée de différentes stations de la Wilaya de Tlemcen : Béni Snous, Bidar, Chetouane, Nedroma et Zenata. Ensuite, la cueillette de la plante *C. draba* (L.) Desv a eu lieu à Mansourah de la Wilaya de Tlemcen. Les coordonnées géographiques de régions sélectionnées, ainsi que les données expérimentales sont, respectivement, cités dans les tableaux 2 et 3.

Tableau 2. Données géographiques et climatiques des zones d'étude

Régions	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Climat
Béni Snous	853	34°38'32"N	1°33'45"O	Climat méditerranéen avec été chaud
Bidar	131	35°4'0"N	2°6'0"O	Climat semi-aride sec et chaud
Chetouane	573	34°55'14"N	1°17'29"O	Climat semi-aride sec et froid
Nedroma	356	35°0'47"N	1°44'51"O	Climat semi-aride sec et froid
Zenata	284	34°59'4"N	1°27'30"O	Climat semi-aride sec et froid
Mansourah	821	34° 52' 16"N	1° 20' 21"O	Climat méditerranéen avec été chaud

Tableau 3. Données des protocoles expérimentaux des plantes sélectionnées

Plante	Lieu de récolte	Date de récolte	Partie(s) utilisée(s)	Technique expérimentale
<i>A. arborescens</i> L.	Béni Snous	Mai 2010	Partie aérienne	Extraction de l'huile essentielle.
	Bidar	Mai 2010	Partie aérienne	Caractérisation chimique de l'huile essentielle.
	Chetouane	Mai 2010	Partie aérienne	Evaluation des activités antibactérienne et anti-radicalaire.
	Nedroma	Mai 2011	Partie aérienne, Feuilles, Tiges et Fleurs	Extraction de l'huile essentielle. Caractérisation chimique de l'huile essentielle.
	Zenata	Avril 2012	Feuilles, Tiges (Poudre)	Extraction solide-liquide (Soxhlet). Dosage de polyphénols et de flavonoïdes. Evaluation de l'activité anti-radicalaire.
			Partie aérienne (Poudre)	Evaluation de l'activité antidiabétique.
<i>C. draba</i> (L.) Desv	Mansourah	Mai 2011	Partie aérienne	Extraction de l'huile essentielle. Caractérisation chimique de l'huile essentielle. Evaluation de l'activité anti-radicalaire.
		Avril 2012	Feuilles, Tiges (Poudre)	Extraction solide-liquide (Soxhlet). Dosage de polyphénols et de flavonoïdes. Evaluation de l'activité anti-radicalaire.

Toutes les biomasses récoltées, en période de la floraison, sont confirmées par le Pr. BENABADJI Nouri et le Dr. HASSANI Fayçal de l'Université de Tlemcen. Débarrassées de débris, ces dernières sont disposées dans un endroit sombre, et bien aéré afin de les sécher jusqu'à leur usage.

2. Caractérisation de la partie volatile des plantes *A. arborescens* L. et *Cardaria draba* (L.) Desv.

2.1. Extraction de l'huile essentielle des plantes étudiées

Plusieurs techniques ont été utilisées pour produire des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques au niveau des laboratoires de recherche. L'appareil le plus, souvent, utilisé est l'appareil de la distillation basant sur la publication de Clewenger en 1928 et qui a été modifié plus tard. L'un de ces appareils modifiés décrit par Cocking et Middleton en 1935 a été introduit dans la pharmacopée européenne et plusieurs autres pharmacopées.

Ce montage consiste en un ballon dans lequel sont introduites la plante et l'eau, portées à ébullition. Ce ballon est relié à un condenseur vertical et un tube gradué pour la détermination volumétrique de l'huile. Dans cet appareil, l'eau peut être recyclée dans l'hydrodistillateur (*Can Başer K.H. et Buchbauer G., 2010*).

2.1.1. Mécanisme de la distillation

L'hydrodistillation de la plante implique trois principaux processus physicochimiques.

2.1.1.1. Hydrodiffusion

La diffusion des huiles essentielles et de l'eau chaude à travers les membranes de la plante est connue par l'hydrodiffusion. Dans la distillation à la vapeur d'eau, la pénétration de la vapeur dans les membranes cellulaires sèches n'est pas réelle. Par conséquent, la plante sèche peut être épuisée avec la vapeur seulement quand toute l'huile volatile a été libérée des cellules par le broyage total de la plante. Mais, quand la plante est mélangée avec de l'eau, l'échange des vapeurs dans le tissu végétal est basé sur leur perméabilité. Les membranes des cellules de la plante sont, presque, imperméables aux huiles volatiles. Par conséquent, à la température d'eau bouillante, une partie d'huile volatile est dissoute dans l'eau présente dans les glandes. Cette solution huile-eau pénètre, par l'osmose, les membranes et arrive, finalement, à la surface externe où l'huile est vaporisée par le passage de la vapeur.

Un autre aspect de l'hydrodiffusion est que la vitesse de la vaporisation de l'huile n'est pas influencée par la volatilité des constituants de l'huile, mais par leur degré de solubilité dans l'eau. Les

constituants les plus volatils, les plus solubles dans l'eau distillent avant les constituants les moins volatils, les moins solubles dans l'eau.

2.1.1.2. Hydrolyse

L'hydrolyse peut être définie comme une réaction chimique entre l'eau et certains constituants des huiles essentielles. Les esters sont des composants des huiles essentielles et, en présence d'eau, surtout à hautes températures, ils sont capables de réagir avec de l'eau pour former des acides et des alcools.

Donc, si la quantité d'eau est grande, le pourcentage des alcools et des acides sera, aussi, grand. Et cela démontre une diminution du rendement de l'huile essentielle. C'est l'un des inconvénients de l'hydrodistillation.

2.1.1.3. Effet de la chaleur

Tous les composants, ou presque, des huiles essentielles sont instables à hautes températures. Pour obtenir une huile de bonne qualité, la distillation doit être effectuée à basses températures (*Handa S.S. et Coll, 2008*).

2.1.2. Protocole d'extraction



Photo 1. Montage
d'hydrodistillation de type Clevenger

L'extraction de l'huile essentielle des deux plantes étudiées a été réalisée à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Une quantité de la plante est introduite dans un ballon de six litres contenant presque trois litres et demi d'eau. L'ensemble est hydrodistillé pendant cinq heures. L'huile essentielle, ainsi obtenue, est récupérée, mise dans un flacon en verre ambré, bien fermé et conservée au congélateur.

Le rendement de chaque hydrodistillation est calculé en effectuant un rapport entre la masse de l'huile essentielle recueillie et la masse de la matière végétale sèche. Le rapport ainsi obtenu est multiplié par 100.

2.2. Analyse chromatographique des huiles essentielles

Une fois l'huile essentielle extraite, l'analyse chimique permet de caractériser les molécules qui la composent. Deux méthodes chromatographiques ont été utilisées : la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM).

2.2.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

L'analyse quantitative a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de type Perkin-Elmer Clarus 600 GC (Walhton MA, USA) équipé d'un seul injecteur et deux détecteurs à ionisation de flamme (FID) et muni de deux colonnes capillaires en silice fondue de type Rtx-1 (polydiméthylsiloxane) et Rtx-wax (polyéthylène glycol) qui possèdent les caractéristiques suivantes (longueur : 60 m, diamètre interne : 0.22 mm, épaisseur de film : 0.25 μ m).

La température de la colonne est programmée de 60 à 230°C à raison d'une montée de 2°C/min puis elle est maintenue à 230°C pendant 30 min.

La température de l'injecteur et celle de détecteur (FID) est fixée à 280°C. Le mode d'injection est Split (rapport de division de 1 : 80). Le débit de gaz vecteur (Hélium) est fixé à 1 ml/min. le volume de l'échantillon injecté est 0.1 μ l.

Les figures 20 et 21 représentent les chromatogrammes (CPG-FID) de l'huile essentielle d'*Artemisia arborescens* L. récoltée à Bidar, respectivement, sur deux colonnes apolaire et polaire.

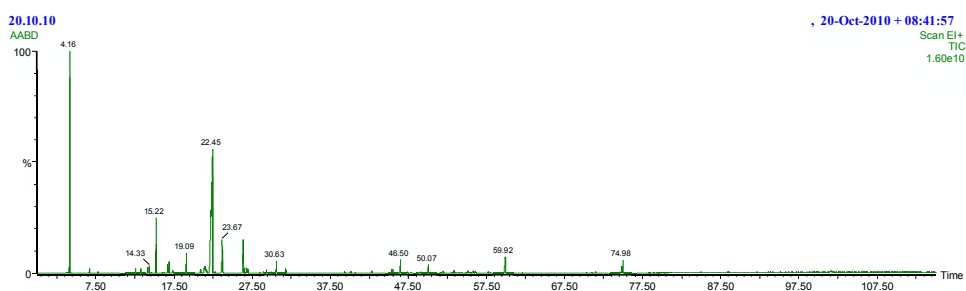


Figure 20. Chromatogramme de l'huile essentielle sur la colonne apolaire

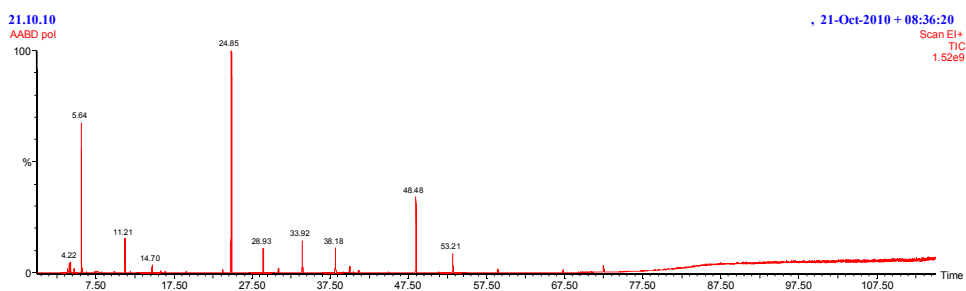


Figure 21. Chromatogramme de l'huile essentielle sur la colonne polaire

2.2.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM)

L'identification des constituants a été réalisée par couplage d'un chromatographe en phase gazeuse de marque Perkin-Elmer Autosystem XL à un spectromètre de masse à quadripôle de type Perkin-Elmer Turbo Mass. La température de la source d'ions est fixée à 150°C. La fragmentation est effectuée en impact électronique sous un champ de 70 eV, scanning 35-350 Da. Les autres conditions opératoires sont les mêmes que celles décrites pour la CPG.

3. Dosage de polyphénols et de flavonoïdes des extraits de plantes

3.1. Extraction solide-liquide de plantes

3.1.1. Principe de l'extraction par Soxhlet

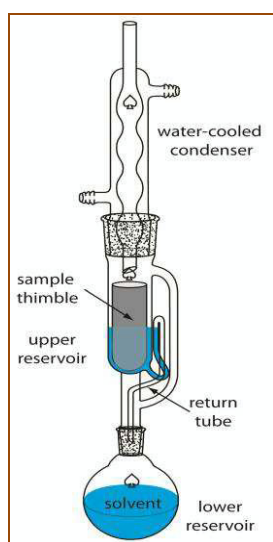


Figure 22. Appareil de Soxhlet

(Source : <http://chemwiki.ucdavis.edu>)

L'extraction par Soxhlet est, largement, utilisée pour extraire les différents métabolites à partir de plantes en raison de sa commodité. La poudre de la plante est placée dans une cartouche en cellulose ou en papier filtre mise dans le corps de l'extracteur. Quand le ballon, contenant le solvant, est chauffé, les vapeurs se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps dans lequel est insérée la cartouche faisant, ainsi, extraire la plante par le solvant. Après l'accumulation du solvant condensé dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, le retour dans le ballon du liquide riche en substances extraites est provoqué (Figure. 22).

La continuité du processus constitue le majeur avantage de cette méthode. De plus, l'extraction par Soxhlet requiert moins de solvant et de temps que la macération ou la percolation. Cependant, l'extrait est constamment chauffé au point d'ébullition du solvant utilisé ce qui peut endommager les composés thermolabiles et engager la formation d'artéfacts (*Handa S.S. et Coll, 2008, Sarker D.S. et Coll, 2006*).

3.1.2. Expérimentation

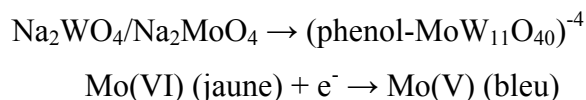
Environ 20 g de la poudre de chaque plante (Feuilles et Tiges) sont mis dans la cartouche en papier filtre épais, insérée dans le corps en verre dans lequel du coton est introduit en bas du corps pour éviter le passage de la plante dans le ballon en prenant soin que la sortie ne soit pas bloquée. Le solvant est introduit dans le ballon. Le système est chauffé à reflux jusqu'à l'épuisement total de la matière végétale, c'est-à-dire que le liquide entourant la cartouche devient clair. Pour chaque plante, trois solvants ont été utilisés pour l'extraction : le dichlorométhane, l'éthanol et l'eau distillée. Ainsi, le solvant est éliminé et le résidu est pesé pour calculer le rendement.

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{masse du résidu} / \text{masse initiale de la poudre}) \times 100$$

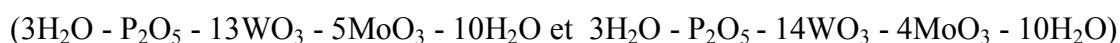
3.2. Dosage des polyphénols totaux

3.2.1. Principe de la méthode de Folin-Ciocalteu (F-C)

La méthode originale de Folin-Ciocalteu (F-C) a été mise au point en 1927. Son résultat : l'oxydation des phénols par le réactif de molybdotungstate donne un produit coloré avec λ_{\max} de 745-750 nm.



Cette méthode est simple, sensible et précise. Mais la réaction est lente à pH acide et manque de spécificité. Singleton V. L. et Rossi J. A. (1965) ont amélioré cette méthode en utilisant un réactif hétéropolyanion molybdotungstophosphorique qui réduit, plus spécifiquement, les phénols et λ_{\max} du produit est de 765 nm.



Ils ont, également, déterminé des mesures et des conditions afin d'obtenir des résultats plus fiables:

- Le rapport volumique en base et en réactif approprié.
- Le temps et la température de la réaction optimaux pour le suivi de la couleur.
- Le suivi de la réaction à 765 nm.
- L'utilisation de l'acide gallique comme un phénol standard de référence.

(Prior R.L. et Coll, 2005, Singleton V. L. et Rossi J. A., 1965).

3.2.2. Expérimentation

L'évaluation des polyphénols totaux a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu (F-C). Dans une fiole jaugée de 5 ml, une prise d'essai de 0.05 ml de l'extrait dilué est mélangée avec 3 ml d'eau distillée et 0.25 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois). Après 30s, nous ajoutons 0.75 ml de Na_2CO_3 (75 g/l). Ensuite, nous ajustons avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Le mélange est incubé à température ambiante pendant 2h et l'absorbance est lue à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (UV/VIS Spectrophotometer Optizen/POP).

Une gamme étalon a été établie avec l'acide gallique pour calculer la concentration des composés phénoliques dans chaque extrait. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait (Prior R.L. et Coll, 2005, Salluca T.G. et Coll, 2008).

3.3. Dosage des flavonoïdes totaux

3.3.1. Principe de la méthode de chlorure d'aluminium

Le principe de cette méthode colorimétrique c'est que le chlorure d'aluminium forme des complexes acides stables avec le groupe cétone du C_4 et le groupe hydroxyle de C_3 ou C_5 des flavones et des flavonols. De plus, il forme des complexes acides labiles avec les groupes *Ortho*-dihydroxyles dans les cycles A ou B des flavonoïdes.

Cette méthode est basée sur la nitration du cycle aromatique portant un groupe catéchol (en présence de NaNO_2 en milieu alcalin). Après l'addition de Al (III), un complexe de couleur jaune a été formé qui, par la suite, vire immédiatement au rouge après l'ajout de NaOH et l'absorbance est mesurée à 510 nm (Chang C.C. et Coll, 2002, Pękal A. et Pырzynska K., 2014).

3.3.2. Expérimentation

La quantification des flavonoïdes dans les différents extraits a été réalisée selon la méthode de trichlorure d'aluminium (Samatha T. et Coll, 2012). Dans une fiole jaugée de 5 ml, une prise d'essai de 0.25 ml de l'extrait est mélangée avec 1 ml d'eau distillée et 0.075 ml de NaNO_2 (5%). Après 6 min,

0.075 ml de AlCl_3 (10%) sont ajoutés. Après avoir incubé pendant 6 min, nous ajoutons 1 ml de NaOH (4%) et nous ajustons avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Après une incubation à température ambiante pendant 15 min, l'absorbance est mesurée à 510 nm.

4. Evaluation des activités biologiques

4.1. Activité antibactérienne

Onze souches bactériennes, provenant de l'institut Pasteur de Paris (IPP), ont été utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante *A. arborescens* L., récoltée de trois régions de Tlemcen : Béni Snous, Bidar et Chetouane, via la méthode d'Agar. Les bactéries à gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Enterococcus faecalis* (ATCC 49452), *L. monocytogenes* (ATCC 15313).

Les bactéries à Gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Citrobacter freundii* (ATCC 8090), *Proteus mirabilis* (ATCC 35659), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603).

L'activité antibactérienne a été testée par la méthode de diffusion sur Agar (*Bagamboula C.F. et Coll., 2004; Mighri H. et Coll., 2010*). Les inoculums ont étéensemencés sur des plaques de gélose Muller-Hinton (MH). Les disques ont été préparés à partir du papier filtre (papier Whatman N° 3, 6 mm de diamètre). Ces derniers sont imprégnés de l'huile essentielle testée à raison de 10 μl . Les boîtes de Pétri traitées sont laissées durant 1 à 2h à 4°C. Ensuite, elles sont incubées à 37°C pendant 24h. L'activité antibactérienne a été évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque.

4.2. Activité anti-radicalaire

4.2.1. Principe de la méthode de DPPH

La stabilité du radical libre 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) résulte de la délocalisation importante de l'électron célibataire sur la totalité de la molécule empêchant, ainsi, la dimérisation de se produire comme c'est souvent le cas pour les autres radicaux. Cette délocalisation est à l'origine de la coloration violette foncée caractérisée par une bande d'absorption à environ 520 nm.

Quand une solution de DPPH est mélangée avec celle pouvant céder un atome d'hydrogène, une diminution de la coloration violette caractéristique de l'apparition de la forme réduite du DPPH

s'est produite. Il persiste une légère coloration jaune due au groupement picryl résiduel (Molyneux P., 2004).

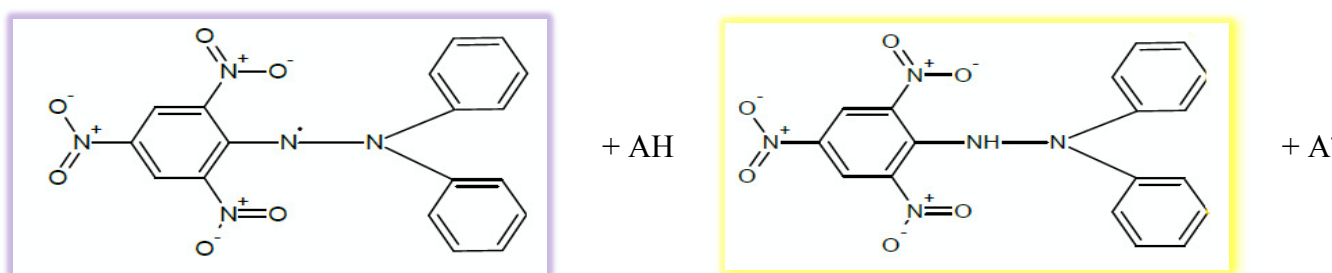


Figure 23. Réaction entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH)

4.2.2. Expérimentation

Deux méthodes différentes ont été effectuées pour l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des huiles essentielles et des extraits des plantes *A. arborescens* L. et *C. draba* (L.) Desv. La première méthode est appliquée pour les huiles essentielles de la plante *A. arborescens* L. récoltée de trois stations de Tlemcen : Béni Snous, Bidar et Chetouane.

Le pouvoir de piégeage du radical a été mesuré selon la méthode décrite par Braca A. et Coll (2002) et Mighri H. et Coll (2010) avec quelques modifications. Différentes concentrations de chaque huile essentielle ont été préparées dans le méthanol (10, 20, 40, 60, 80 et 100 mg/ml). Deux millilitres de la solution méthanolique de DPPH (24 µg/ml) sont mélangés avec 50 µl de la solution de l'huile essentielle pour chaque concentration testée. Toutes les solutions sont incubées à température ambiante. La cinétique de la réaction est suivie en mesurant, pendant 3h, l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm par un spectrophotomètre UV/Vis (Thermo spectronic Heliosγ). La même procédure est répétée pour les antioxydants standards: Acide ascorbique et Acide tannique L'activité anti-radicalaire est exprimée par le pourcentage de réduction de radical libre DPPH selon l'équation suivante : (Braca A. et Coll, 2002, Mighri H. et Coll, 2010).

$$\text{Pourcentage de reduction de DPPH (\%)} = \frac{[\text{Abs}_0 - \text{Abs } t]}{\text{Abs}_0} \times 100$$

Abs₀ : Absorbance t = 0 min

Abs t : Absorbance de la solution testée à un temps donnée

Pour la deuxième méthode, quelques changements ont été mis au point : Différentes concentrations de chaque extrait ont été préparées dans l'éthanol. Un millilitre de la solution éthanolique de DPPH (137 mM) est mélangé avec un millilitre de la solution de l'huile essentielle pour chaque concentration testée. Toutes les solutions sont incubées à température ambiante. La

cinétique de la réaction est suivie en mesurant, pendant 3h, l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm par un spectrophotomètre UV/Vis (OPTIZEN POP). L'acide ascorbique et l'acide gallique ont été utilisés comme des antioxydants de référence (Pourmorad F. et Coll, 2006).

4.3. Activité antidiabétique

Ce travail, ayant pour objectif l'étude de l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la partie aérienne de la plante *A. arborescens* L., a été réalisé au niveau de l'animalerie à la ferme expérimentale de la faculté des sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Mascara.

4.3.1. Préparation de l'extrait aqueux de la plante *A. arborescens* L.



Figure 24. Extrait aqueux de la plante *A. arborescens* L.

Après la récolte et le séchage de la partie aérienne de la plante *A. arborescens* L., la préparation de l'extrait aqueux a été évaluée par la méthode d'infusion du broyat dans l'eau distillée, à raison de 5% (m/v) pendant 30 min. Une fois filtré, le filtrat est mis dans une étuve à la température de 50°C jusqu'à l'obtention d'un résidu sec. Ce dernier est conservé dans des flacons en verre bien fermés à une température de + 4°C (Figure. 24).

4.3.2. Préparation des animaux



Figure 25. Rat Wistar

Des rats adultes Wistar^(Figure.25) (*Rattus norvegicus*) de sexe mâle ont été utilisés. Ces rats sont âgés de 3 mois ayant un poids initial de 250 ± 50 g.

L'élevage constitue l'étape la plus longue dans ce travail. Il faut quatre mois au minimum pour obtenir le nombre de rats suffisant. Les animaux ont été maintenus dans un environnement contrôlé (température 25 à 30°C, une alimentation de bétails ONAB).

Les animaux ont été divisés en cinq groupes :

Lot 1 : deux rats normaux pour le test de toxicité aigüe.

Lot 2 : quatre rats normaux non traités recevant le tween 80 à 5%.

Lot 3 : quatre rats normaux traités par 200 mg / kg d'extrait aqueux.

Lot 4 : quatre rats diabétiques non traités recevant le tween 80 à 5%.

Lot 5 : quatre rats diabétiques traités par 200 mg / kg d'extrait aqueux.

4.3.3. Recherche de la toxicité aigüe de l'extrait aqueux de la plante

L'extrait aqueux de la partie aérienne de l'espèce *A. arborescens* L. a été testé pour sa toxicité aigüe. Une forte dose de 3 g/kg de l'extrait a été administrée chez deux rats femelles et l'observation des symptômes de la toxicité (le changement de comportement, la mortalité) a été effectuée pendant 15 jours.

4.3.4. Induction du diabète expérimental

Un diabète expérimental a été provoqué par injection intraveineuse de la streptozotocine à raison de 50 mg/kg à travers la veine de la queue. L'injection se fait sur des rats anesthésiés par une solution de chloral hydraté (4%) à une dose de 200 mg/kg par la voie intra-péritonéale. La streptozotocine est préparée, juste avant l'administration, dans un tampon citrate (0.1M, pH 4.5) à une concentration de 50 mg/ml. Les animaux ayant une glycémie supérieure à 1,6 g/l sont considérés comme diabétiques et ont été impliqués dans l'expérience.



Figure 26. Injection de la streptozotocine par voie intraveineuse

4.3.5. Gavage de l'extrait végétal

Le résidu sec obtenu après extraction est solubilisé dans une solution de tween 80 à 5 % et administré chez les rats par voie orale à raison de 200 mg/kg de poids corporal. Le gavage est réalisé à l'aide d'une sonde de gavage à raison de 10 ml/kg.



Figure 27. Gavage de l'extrait

4.3.6. Prélèvement du sang



Figure 28. Prélèvement du sang

Le sang a été prélevé par ponction dans le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil de l'animal à l'aide d'une pipette pasteur préalablement rincée avec une solution d'anti coagulant (EDTA à 0.1 %). Le sang a été mis dans des tubes contenant un anticoagulant. Ces prélèvements ont été faits sur l'animal vivant (sans anesthésie) et maintenu à jeûn pendant 16h.

4.3.7. Test de tolérance au glucose

A la fin de l'expérimentation, les différents groupes de rats ont été soumis au test de tolérance au glucose réalisé, d'une part, par le gavage de 3g/kg d'une solution de glucose. D'autre part, ce test a été réalisé par une injection péritonéale à raison de 3 g/kg de la même solution aux rats de différents lots. La glycémie est suivie pendant deux heures.

4.3.8. Evaluation statistique

Une étude statistique a été réalisée à fin de comparer les différents résultats : Le test de Student de distribution bilatérale et de type hétéroscédastique (type 3) a été choisi. L'interprétation de la différence, en fonction de P ; le degré de signification, est la suivante :

- La différence n'est pas significative ($P > 0,05$).
- La différence est significative * ($0,05 > P$).

Les résultats sont représentés sous la formule : Moyenne \pm Erreur standard.

Chapitre III

Artemisia arborescens L. -Résultats et discussion-

Résumé : *Ce chapitre traite de l'étude expérimentale avec une discussion détaillée des résultats obtenus.*

Une extraction des huiles essentielles de différentes parties de la plante Artemisia arborescens L., récoltée de différentes régions de Tlemcen, a été effectuée par hydrodistillation au moyen d'un dispositif de Clevenger. Un complexe de cinquante composés a été identifié après une analyse chimique par des techniques de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM). Les huiles essentielles, provenant de différentes régions de Tlemcen, sont principalement composées du Camphre qui est déterminé comme un nouveau chémotype en Algérie (Page 61).

Des extractions réalisées sur des feuilles et des tiges de l'espèce Artemisia arborescens L., en utilisant trois solvants de polarité croissante, ont été pratiquées. Les dosages de polyphénols et de flavonoïdes évalués, respectivement, par la méthode de Folin-Ciocalteu (F-C) et la méthode de chlorure d'aluminium montrent la richesse de tous les extraits en composés phénoliques et en flavonoïdes (Page 71).

Enfin, une estimation des activités biologiques de la plante sélectionnée a été déterminée. Les résultats révèlent que cette espèce possède une activité anti-radicalaire, une activité antibactérienne et une activité antidiabétique (Page 74)

1. Caractérisation chimique des huiles essentielles

Les différentes parties de la plante *A. arborescens* L., récoltée de quatre régions de la wilaya de Tlemcen, ont été hydrodistillées pendant 5 h en utilisant un dispositif de Clevenger. Des huiles essentielles de couleur bleu à tendance verte, portant une odeur forte et caractéristique, ont été obtenues. Les rendements d'hydrodistillation varient entre 0.31% et 5.71% par rapport à la matière sèche, selon le lieu et la date de récolte et la partie de la plante utilisée. D'après les résultats, la partie aérienne de la plante de Nedroma est plus riche en huile essentielle (1.64%) que celles des autres régions (Béni Snous : 0.52%, Bidar : 0.31% et Chetouane 0.64%). Pour les rendements en huile essentielle cités dans la littérature, ils sont compris entre 0.30% et 1.70%. Nous pouvons conclure que nos résultats sont, à peu près, conformes aux données bibliographiques. D'autre part, les fleurs de la plante *A. arborescens* L. sont caractérisées par leur richesse en huile essentielle (5.71%) que les autres parties de la plante (Partie aérienne : 1.64%, Feuilles : 1.36% et Tiges : 0.61%).

Après extraction par hydrodistillation, la composition chimique des huiles essentielles a été déterminée par deux techniques : la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Les résultats sont regroupés dans le tableau 4.

Un complexe de cinquante-deux composés a été déterminé, parmi eux cinquante composés ont été identifiés constituant entre 65.51% - 90.20% de la quantité totale de l'huile essentielle. Ces composés ont été représentés par cinq groupes : les monoterpènes hydrocarbonés, les monoterpènes oxygénés, les sesquiterpènes hydrocarbonés, les sesquiterpènes oxygénés et les phénylpropanoïdes.

Au vu du tableau des résultats, nous remarquons que toutes les huiles essentielles sont riches en monoterpènes oxygénés (33.87% - 78.40%). Viennent, ensuite, les monoterpènes hydrocarbonés pour les huiles essentielles de Béni Snous et Bidar (5.20% et 15.90%, respectivement) et les sesquiterpènes hydrocarbonés pour les huiles essentielles de Chetouane et les différentes parties de la plante récoltée à Nedroma (14.80% - 35.53%).

Les huiles essentielles extraites des parties aériennes de la plante *A. arborescens* L. provenant de quatre régions : Béni Snous, Bidar, Chetouane et Nedroma sont composées, principalement, de Camphre (72.20%, 50.30%, 32.80% et 33.75% respectivement). D'autres constituants majoritaires, dont la concentration est supérieure à 4%, sont présents tels que : (Bidar : Myrcène 7.40%, Terpinèn-4-ol 6.10% ; Chetouane : Terpinèn-4-ol : 8.90%, Chamazulène 8.70% ; Nedroma : *trans*-Hydrate de sabinène 5.71%, Chamazulène 27.41%).

Tableau 4. Composition chimique des huiles essentielles de la plante *A. arborescens* L. en fonction du lieu de récolte et de la partie étudiée

N°	Composés	IR ^a _{Lit}	IR ^b	IR ^c	Mai 2010				Mai 2011		
					Béni Snous	Bidar	Chetouane	Nedroma			
					Partie aérienne	Partie aérienne	Partie aérienne	Partie aérienne	Feuilles	Fleurs	Tiges
<i>Monoterpènes hydrocarbonés</i>					5.20%	15.90%	10.50%	3.08%	7.99%	0.33%	1.30%
1	α -Thujène	922	922	1020	0.10	0.10	0.10	0.06	0.21	-	0.01
2	α -pinène	931	930	1018	0.10	0.50	0.40	0.33	1.62	-	0.02
3	Camphène	943	943	1061	tr	0.50	0.60	0.46	1.93	-	0.01
4	Sabinène	964	964	1116	0.90	0.70	0.10	0.15	0.10	-	0.09
5	β -pinène	970	969	1106	0.10	0.10	tr	0.06	0.10	-	0.02
6	Myrcène	979	980	1154	2.00	7.40	2.70	0.02	0.03	-	0.07
7	α -Phellandrène	997	997	1158	0.10	0.10	0.10	0.02	0.07	0.01	0.23
8	α -Terpinène	1008	1009	1173	0.20	1.00	0.90	0.04	0.82	0.01	0.07
9	p-cymène	1011	1012	1261	0.70	1.40	1.30	0.25	0.73	0.11	0.03
10	Limonène	1020	1021	1193	0.30	0.50	0.40	0.68	0.03	-	0.57
11	γ -Terpinène	1047	1048	1238	0.60	2.60	3.10	0.81	1.94	0.20	0.13
12	Terpinolène	1078	1078	1275	0.10	0.50	0.70	0.20	0.41	-	0.05
13	1,4-Dihydro-p-menth-2-ène	1245	1242	2071	tr	0.50	0.10	-	-	-	-
<i>Monoterpènes oxygénés</i>					78.40%	61.80%	50.90%	48.25%	47.04%	40.16%	33.87%
14	1,8-Cinéole	1020	1021	1205	0.10	0.20	0.30	0.02	0.01	-	0.06
15	<i>trans</i> -Hydrate de sabinène	1051	1053	1454	0.10	0.10	2.30	5.71	1.27	8.09	9.52
16	<i>cis</i> -Hydrate de sabinène	1083	1085	1509	2.10	2.30	3.40	1.32	2.39	-	0.88
17	α -Thujone	1089	1085	1387	0.20	0.30	0.40	1.91	0.07	4.03	1.21
18	β -Thujone	1103	1097	1411	0.90	1.10	1.00	0.08	0.09	-	0.02
19	<i>trans</i> -Hydrate de pinène	1110	1109	1387	0.20	0.30	0.50	0.07	0.29	0.25	0.18
20	Camphre	1123	1124	1505	72.20	50.30	32.80	33.75	36.56	23.13	18.19
21	<i>cis</i> -Hydrate de pinène	1130	1132	1411	0.10	0.10	0.10	0.08	0.08	-	0.06
22	Bornéol	1148	1149	1694	tr	0.30	0.40	0.32	0.23	0.67	0.57
23	Terpinèn-4-ol	1161	1163	1590	2.10	6.10	8.90	3.82	4.99	2.10	2.08
24	α -Terpinéol	1179	1180	1694	tr	0.40	0.20	0.66	0.65	0.81	0.59
25	<i>cis</i> -Pipéritol	1181	1190	1674	0.10	0.10	0.20	0.06	0.05	-	0.10
26	<i>trans</i> -Pipéritol	1193	1195	1676	0.10	0.10	0.10	0.04	0.06	0.44	0.07
27	Péridalaldéhyde	1248	1245	1785	0.20	0.10	0.30	0.41	0.30	0.64	0.34
<i>Sesquiterpènes hydrocarbonés</i>					2.60%	6.40%	14.80%	30.19%	26.38%	35.53%	26.47%
28	α -Copaène	1379	1376	1483	tr	0.20	0.20	0.12	0.10	-	0.19
29	β -Bourbonène	1385	1383	1509	0.10	tr	0.10	0.07	0.05	-	0.58
30	<i>trans</i> -Caryophyllène	1424	1414	1584	0.40	0.30	0.70	0.04	0.04	0.30	0.05
31	γ -Muuroolène	1471	1468	1677	0.10	0.10	0.20	0.06	0.03	-	1.01
32	Germacrène-D	1480	1474	1694	1.50	2.10	3.50	2.22	1.88	1.88	3.80
33	(E,E)- α -farnesène	1498	1495	1736	0.20	0.30	0.80	0.15	1.48	0.57	0.32
34	γ -Cadinène	1507	1504	1742	0.10	0.10	0.10	0.06	0.31	0.77	0.10
35	δ -Cadinène	1516	1512	1752	0.10	0.10	0.50	0.06	0.10	-	0.10
36	Chamazulène	1713	1707	2360	0.10	3.20	8.70	27.41	22.39	32.01	20.32
<i>Sesquiterpènes oxygénés</i>					3.00%	2.90%	4.10%	2.57%	2.25%	4.45%	3.43%
37	Butyrate de bornyle	1453	1449	1709	0.10	0.10	0.10	0.05	0.05	-	0.11
38	Elemol	1535	1532	2061	1.00	1.10	1.60	1.14	0.80	2.60	1.12
39	Oxyde de caryophyllène	1576	1574	1978	0.10	0.10	0.30	0.12	0.03	0.76	0.06
40	Isovalérate de géranyle	1587	1586	1893	0.50	0.20	0.30	0.51	0.31	0.53	0.89
41	Oxyde d'aromadendrène 2	1617	1616	1993	0.20	0.20	0.30	0.21	0.31	0.14	0.62
42	α -Eudesmol	1619	1620	2185	0.40	0.20	0.40	0.11	0.15	0.15	0.11
43	Tau-cadinol	1632	1630	2164	0.20	0.30	0.10	0.23	0.42	-	0.24
44	Himachalol	1644	1636	2208	0.30	0.40	0.70	0.07	0.07	0.27	0.14
45	α -Bisabolol	1672	1665	2208	0.20	0.30	0.30	0.13	0.11	-	0.14
<i>Phénylpropanoïdes</i>					0.30%	0.20%	0.40%	0.18%	0.16%	-	0.36%
46	Méthyl eugénol	1367	1373	2007	0.20	0.20	0.30	0.14	0.14	-	0.30

47	Isobutyrate de l'isochavicol	1541	1541	2132	0.10	tr	0.10	0.04	0.02	-	0.06
	<i>Autres</i>				0.70%	1.00%	1.10%	0.07%	0.19%	-	0.08%
48	Toluène	749	751	943	0.60	0.30	0.80	-	-	-	-
49	6-Méthyl hept- 5-én-2-one	963	961	1327	0.10	0.50	0.10	-	0.12	-	-
50	Jasmone	1364	1366	1885	tr	0.20	0.20	0.07	0.07	-	0.08
	<i>Composés non identifiés</i>				1.60%	1.50%	3.30%	2.64%	1.99%	7.83%	4.91%
51	Inconnu 1	-	1589	2284	0.40	0.20	1.00	0.55	1.04	1.24	3.45
52	Inconnu 2	-	1997	2321	1.20	1.30	2.30	2.09	0.95	6.59	1.46
	<i>Composés détectés</i>				91.80%	89.70%	85.10%	86.98%	86.00%	88.30%	70.42%
	<i>Composés identifiés</i>				90.20%	88.20%	81.80%	84.34%	84.01%	80.47%	65.51%
	<i>Rendement</i>				0.52%	0.31%	0.64%	1.64%	1.36%	5.71%	0.61%

^a Indices de rétention de la littérature de la colonne apolaire rapportés par : *librairie Arômes (1987-2011), König W.A. et Coll (2001), Adams R.P. (2001), Velasco-Negueruela A. et Coll (2002), Dabiri M. et Sefidkon F. (2003), Bendimerad N. et Coll (2005), Cha J.D. (2007), Dib M.A. et Coll (2010), Khamsan S. et Coll (2011).*

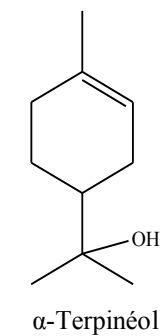
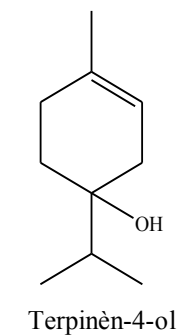
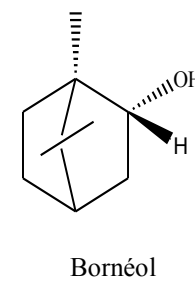
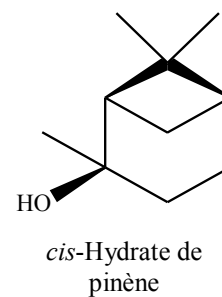
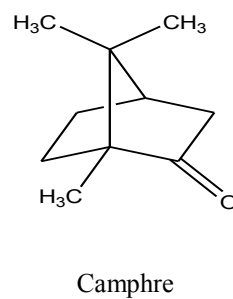
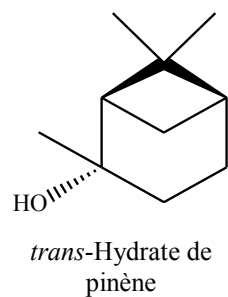
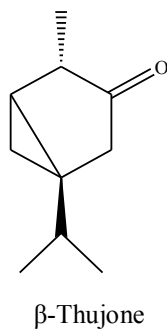
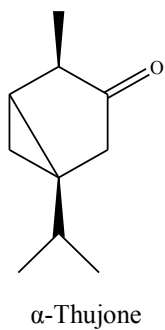
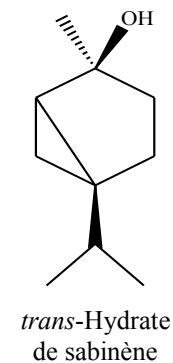
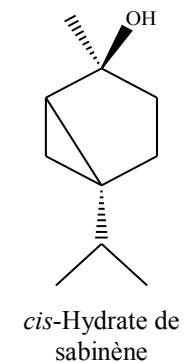
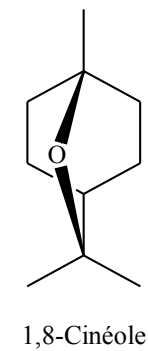
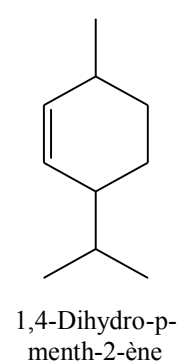
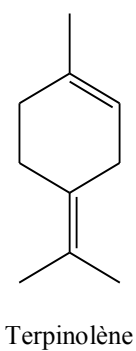
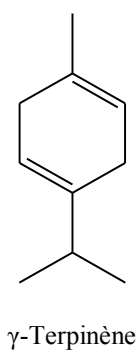
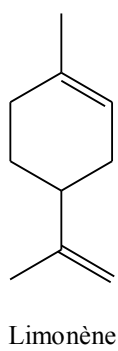
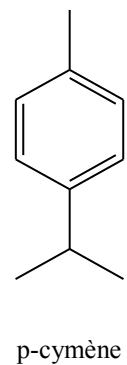
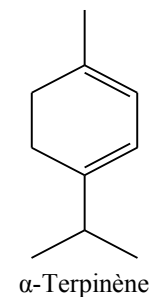
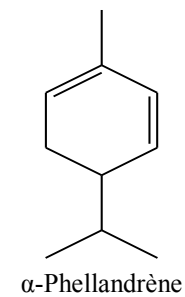
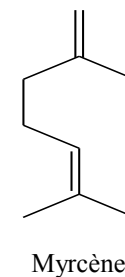
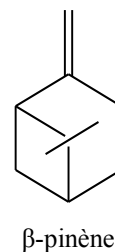
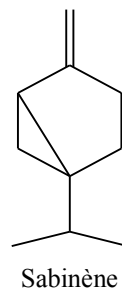
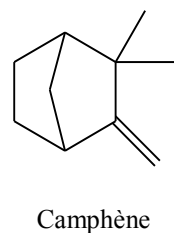
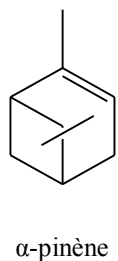
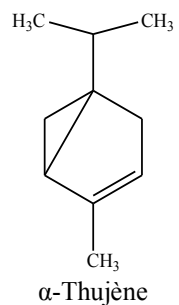
^b Indices de rétention de la colonne apolaire Rtx-1.

^c Indices de rétentions de la colonne polaire Rtx-Wax.

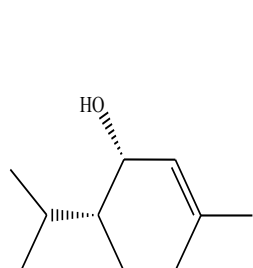
tr : trace (<0.05%).

L'influence du facteur de la partie de la plante utilisée sur la composition chimique des huiles essentielles a été, également, étudiée. Pour ce faire, quatre parties de la plante *A. arborescens* L., récoltée à Nedroma, ont été sélectionnées (Partie aérienne, Feuilles, Fleurs et Tiges). Deux composés majoritaires différents ont été déterminés : Camphre (Partie aérienne : 33.75%, Feuilles : 36.56%) et Chamazulène (Fleurs : 32.01%, Tiges : 20.32%).

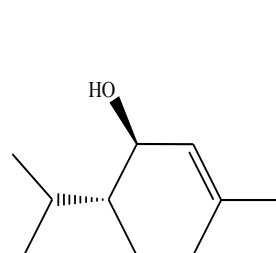
Le tableau 5 résume tous les travaux antérieurs effectués sur la plante *A. arborescens* L. provenant de différentes régions du monde (Italie, USA, Maroc, Liban, Turquie et Algérie - Béjaïa -). Le lieu et la date de récolte, la partie de la plante utilisée, la méthode d'extraction choisie, la composition chimique et les pourcentages des constituants ainsi que le rendement d'extraction y sont mentionnés.



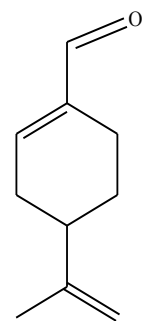
(Suite)



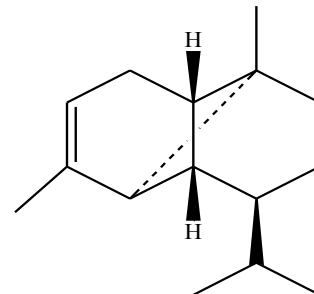
cis-Pipéritol



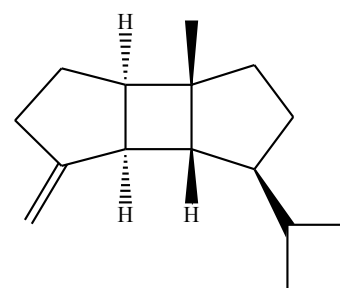
trans-Pipéritol



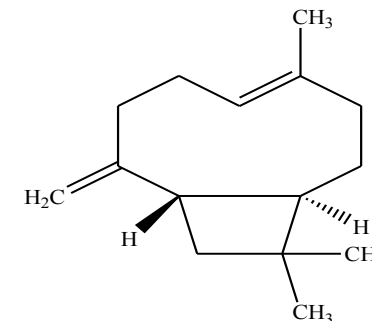
Périllaldéhyde



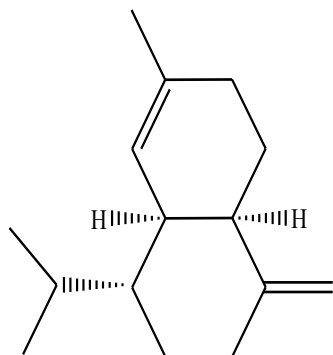
α -Copaène



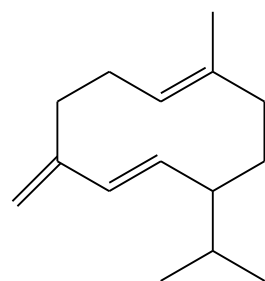
β -Bourbonène



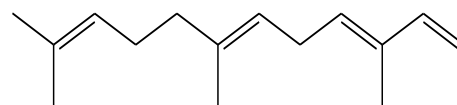
trans-Caryophyllène



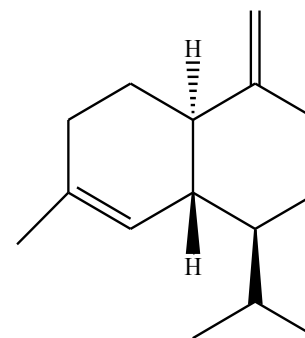
γ -Muuroolène



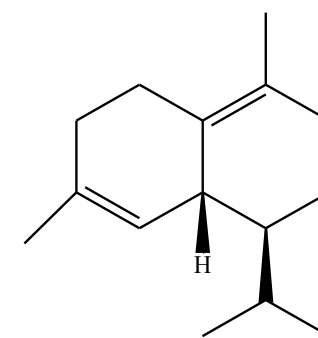
Germacrène-D



(E,E)- α -farnesène

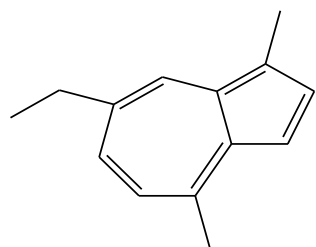


γ -Cadinène

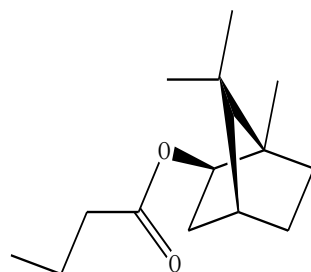


δ -Cadinène

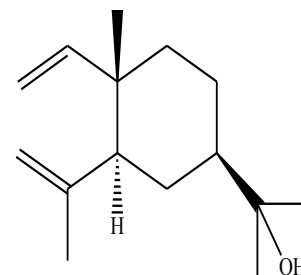
(Suite)



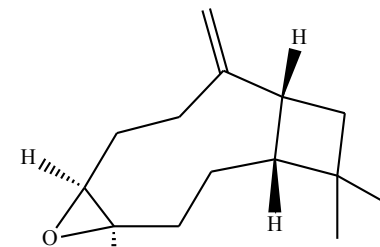
Chamazulène



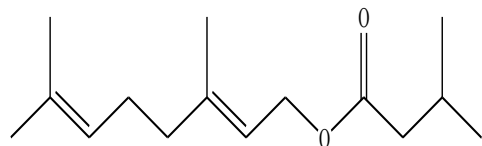
Butyrate de bornyle



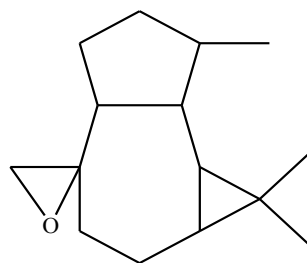
Elemol



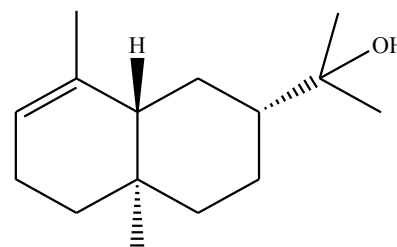
Oxyde de caryophyllène



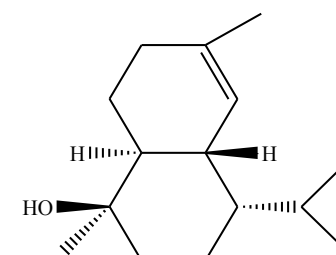
Isovalérate de géranyle



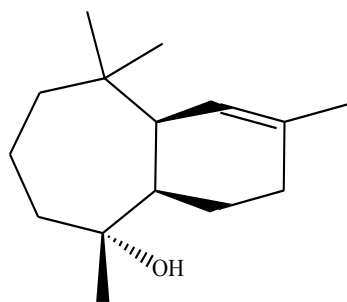
Oxyde d'aromadendrane 2



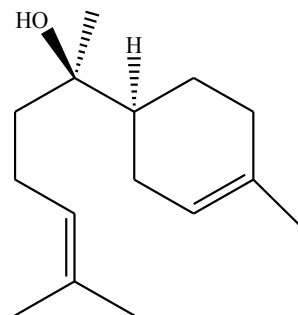
α -Eudesmol



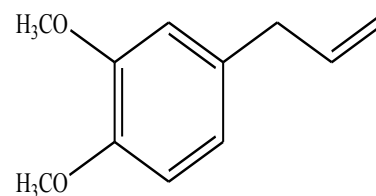
Tau-cadinol



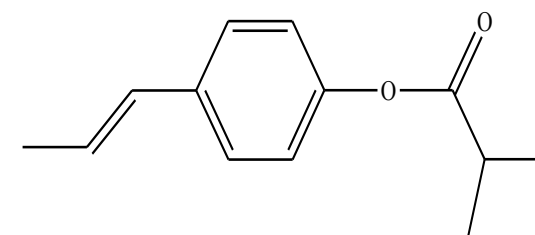
Himachalol



α -Bisabolol



Méthyl eugénol



Isobutyrate de l'isochavicol

Figure 29. Structure chimique des constituants détectés dans les huiles essentielles de l'espèce *Artemisia arborescens* L.

Tableau 5. Composition chimique des huiles essentielles de l'espèce *A. arborescens* L. provenant de différentes régions du monde

N° Composés	Italie										USA	Maroc	Liban	Turquie	Bejaia -Algérie-
	Sicile ¹	Sardaigne	Sicile ²					Sicile ³	Calabre	Ile De Lipari					
	Partie aérienne	Feuilles	Petru	Diga	Felice	Arte	Venti	Feuilles							
	Janvier 2010	Octobre 2003	Janvier 2010					Avril- Mai 2005							
Distillation à la vapeur d'eau	Hydro- distillation	Hydrodistillation					Hydrodistillation assistée par micro-ondes			-	-	Hydro- distillation	Hydro- distillation	Hydro- distillation	
<i>Monoterpènes hydrocarbonés</i>															
1	<i>cis</i> -Salvène	tr	-	0.10	0.10	0.10	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-
2	Tricyclène	-	0.19	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-
3	α -Thujène	tr	-	0.20	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0.35	0.31	0.70	-	-
4	α -Pinène	0.70	0.75	0.90	0.30	0.60	1.00	0.80	0.30	0.50	0.20	3.24	3.00	-	1.37
5	Camphène	0.61	0.55	0.60	0.20	1.50	1.00	0.60	0.40	0.60	0.30	2.81	2.71	0.10	2.50
6	Sabinène	2.33	1.79	1.30	tr	1.40	2.00	3.00	0.10	tr	0.30	0.23	3.99	0.80	-
7	β -Pinène	tr	0.16	tr	1.40	0.20	0.10	tr	tr	tr	-	-	-	0.10	-
8	Myrcène	2.03	1.13	1.60	2.50	5.10	5.40	6.80	2.00	1.00	2.10	5.05	9.10	1.10	1.49
9	α -Phellandrène	0.34	0.26	tr	0.20	0.10	0.20	0.20	tr	0.10	tr	-	-	-	-
10	α -Terpinène	0.69	0.92	0.40	0.40	0.50	0.50	1.20	0.10	0.30	-	1.11	1.65	0.40	0.68
11	p-cymène	0.33	0.32	0.80	0.20	0.20	0.30	0.30	0.20	0.10	0.10	1.04	2.10	0.30	0.99
12	Limonène	tr	0.18	tr	tr	0.20	0.30	0.20	0.60	0.40	0.30	1.06	1.17	0.10	0.53
13	β -Phellandrène	-	0.35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	(Z)- β -Ocimène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
15	(E)- β -Ocimène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
16	γ -Terpinène	1.29	1.41	1.60	0.90	1.10	1.00	2.40	0.70	0.80	0.90	1.86	4.12	0.70	1.26
17	Terpinolène	tr	0.27	0.30	0.10	0.30	0.40	0.30	0.10	0.20	0.10	-	-	0.20	-
18	2-Méthyl isopentylbutanoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.31
<i>Monoterpènes oxygénés</i>															
19	1,8-Cinéole	tr	-	0.40	0.20	0.20	0.20	0.20	tr	tr	tr	-	-	0.40	-
20	Alcool thuyilique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.10	-
21	<i>cis</i> -Hydrate de sabinène	1.65	1.21	1.30	0.90	1.20	2.30	2.60	0.30	0.90	0.80	-	-	1.00	-
22	Fenchone	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-
23	Epoxymyrcène	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
24	Linalol	0.22	1.48	1.50	tr	tr	tr	tr	0.70	0.80	1.20	0.65	2.06	1.00	-
25	<i>trans</i> -Hydrate de sabinène	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	-	-	-	2.87	1.07	-	-
26	α -Thujone	0.75	1.33	0.90	1.00	1.50	0.80	0.50	tr	-	tr	nd	1.00	0.90	1.29
27	β -Thujone	45.04	33.70	20.50	49.50	55.90	44.00	41.70	1.50	-	6.60	nd	30.06	68.50	0.13

28	<i>cis</i> -Verbénol	-	0.19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
29	Menth-2-èn-1-ol	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
30	<i>cis-p</i> - Menth-2-èn-1-ol	-	-	tr	tr	0.10	0.10	0.20	-	-	-	-	-	-	-	
31	<i>trans-p</i> - Menth-2-èn-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	
32	α -Campholénal	-	-	-	-	-	-	-	0.10	0.40	0.10	-	-	-	-	
33	Camphre	6.78	6.71	8.40	1.30	2.30	10.70	6.50	21.40	39.50	20.10	16.71	21.67	0.70	33.39	
34	Hydrate de camphène	-	-	-	-	-	-	-	0.10	0.10	0.10	-	-	-	-	
35	Isobornéol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.10	-	-	
36	Bornéol	tr	0.18	tr	tr	1.00	0.30	0.20	0.20	0.30	0.40	-	-	-	0.86	
37	Terpinèn-4-ol	2.16	3.91	1.00	1.20	1.80	1.50	3.90	2.00	3.70	3.20	2.05	3.34	1.50	4.75	1.80
38	Myrcénol	-	-	-	-	-	-	-	0.50	0.30	0.70	-	-	-	-	-
39	α -Terpinéol	tr	0.44	2.50	0.50	0.70	0.50	0.70	0.30	0.50	0.30	0.19	0.37	0.20	0.54	-
40	<i>trans</i> -Pipéritol	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	0.10	-	-	-	-	-
41	Nérol	-	-	-	-	-	-	-	0.10	-	-	-	-	0.30	-	-
42	Pulégone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
43	Acétate de linalyl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	Carvone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.30	-	-
45	Géranial	-	-	-	-	-	-	-	0.10	0.10	tr	-	-	-	-	-
46	Péridalaldéhyde	-	-	-	-	-	-	-	0.50	0.20	0.50	-	-	-	0.43	0.60
47	Acétate de bornyle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.30	-	-	-	-	-
48	Thymol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20	-	-
49	Limonèn-10-ol	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
50	Alcool périllique	-	-	-	-	-	-	-	0.20	-	0.20	-	-	-	-	0.50
51	Carvacrol	tr	-	0.10	0.20	-	1.60	0.30	-	-	-	-	-	0.70	-	-
52	Acétate de géranyle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.10	-	-
	<i>Sesquiterpènes hydrocarbonés</i>	<i>27.13%</i>	<i>32.12%</i>	<i>53.90%</i>	<i>30.00%</i>	<i>19.60%</i>	<i>19.30%</i>	<i>21.80%</i>	<i>47.60%</i>	<i>32.50%</i>	<i>45.60%</i>	<i>50.96%</i>	<i>4.36%</i>	<i>16.00%</i>	<i>23.64%</i>	<i>32.50%</i>
53	β -Cubebène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.50	-	-
54	Copaène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.44	0.27	-	-	-
55	α -Copaène	0.19	0.24	0.40	-	-	-	-	0.40	0.20	0.30	-	-	0.40	-	0.10
56	Elémène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.40	-	-
57	β -Bourbonène	tr	0.15	0.20	0.30	0.30	0.20	0.20	0.20	0.20	0.10	0.21	0.24	-	-	-
58	(E)-Caryophyllène	-	0.77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.05	-
59	β -Caryophyllène	0.89	-	0.60	0.90	0.80	0.70	0.80	3.50	2.60	4.80	3.56	0.37	0.20	-	0.60
60	β -Copaène	-	-	-	-	-	-	-	tr	0.10	tr	-	-	-	-	-
61	α -Gaiène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20	-	-
62	β -Gurjunène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	α -Humulène	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	0.30	0.30	0.40	-	-	0.30	-	-
64	γ -Muuroolène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	<i>cis</i> -Muurolo-3,5-diène	-	0.15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	Germacrène-D	3.34	1.63	2.80	3.40	3.10	2.40	2.30	4.50	1.30	3.90	7.15	2.03	0.70	-	1.20
67	β -Sélinène	-	-	-	-	-	-	-	0.20	0.10	0.30	-	-	-	0.54	-
68	<i>cis</i> - γ -Cadinène	-	2.54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	Bicyclogermacrène	tr	-	tr	0.10	0.10	0.10	tr	0.20	0.10	0.20	-	-	-	-	-
70	α -Famesène	-	-	0.50	0.40	0.10	0.20	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
71	(E,E)- α -Famesène	-	-	-	-	-	-	-	0.50	0.50	1.00	-	-	-	-	-

72	α -Farsène	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
73	nor β -Calamenène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.40	
74	Calacorène	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
75	Isomère de calacorène	-	-	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	
76	Cadinène	-	-	-	-	-	-	0.20	-	tr	-	-	-	-	-	
77	δ -Cadinène	tr	-	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	
78	β -Bisabolène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.30	-	-	
79	Dihydrochamazulène I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.30	-	-	
80	Dihydrochamazulène II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.40	-	-	
81	Chamazulène	22.71	26.64	49.40	24.90	15.20	15.70	18.50	37.60	27.10	34.60	39.60	1.45	12.30	21.05	30.20
	<i>Sesquiterpènes oxygénés</i>	<i>0.72%</i>	<i>4.42%</i>	<i>1.00%</i>	<i>0.70%</i>	<i>0.70%</i>	<i>0.60%</i>	<i>0.60%</i>	<i>4.90%</i>	<i>5.80%</i>	<i>2.40%</i>	-	-	<i>1.40%</i>	<i>12.72%</i>	<i>15.10%</i>
82	Déhydrosesquicinéole	tr	-	tr	0.10	0.20	0.10	0.20	-	-	-	-	-	-	-	-
83	Epi-cubébol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	Cubébol	-	0.44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	Elémol	-	0.80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86	α -Elémol	-	-	-	-	-	-	0.10	0.20	-	-	-	-	-	-	-
87	Germacrène D-4-ol	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	0.20	-	0.10	-	-	-	-	-
88	Nérolidol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.40	-	-	-
89	Spathulénol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.34	-	-
90	Isovalérate de néryle	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
91	Oxyde de caryophyllène	tr	0.41	0.20	0.30	0.30	0.30	0.20	0.90	0.60	1.50	-	-	0.30	4.35	0.60
92	Isovalérate de géranyle	0.72	-	0.80	0.30	0.20	0.20	0.20	1.70	0.80	tr	-	-	0.20	-	-
93	Epoxyde d'humulène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.37	-
94	(Z)-Sesquilavandulol	-	0.23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
95	10-Epi- γ -eudesmol	-	0.82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	(E)-Sesquilavandulol	-	0.84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
97	Fonénol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.90
98	α -Eudesmol	-	0.88	-	-	-	-	-	-	0.70	-	-	-	-	-	-
99	β -Eudesmol	-	-	-	-	-	-	-	2.00	2.80	0.30	-	-	-	7.66	8.10
100	α -Bisabolol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.70	0.30	-	-	-	-	-
101	β -Bisabolol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.50	-	-	-
102	α -Sinensal	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	0.20	-	-	-	-	-
103	Catalponol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.50
	<i>Phénylpropanoïdes</i>	<i>tr</i>	-	<i>tr</i>	<i>tr</i>	<i>tr</i>	<i>tr</i>	<i>tr</i>	<i>0.20%</i>	<i>0.30%</i>	<i>0.20%</i>	-	-	-	-	<i>tr</i>
104	Eugénol	-	-	-	-	-	-	-	0.10	-	-	-	-	-	-	-
105	Méthyl eugénol	tr	-	tr	tr	tr	tr	tr	0.10	0.30	0.20	-	-	-	-	tr
	<i>Rendement</i>	<i>0.33%</i>	<i>1.40%</i>	<i>~ 0.35%</i>				-	-	-	<i>0.30%</i>	-	<i>1.70%</i>	<i>1.20%</i>	<i>0.87%</i>	

Références : Militello M. et Coll, 2011 pour la région de Sicile¹ ; Marongiu B. et Coll, 2006 pour la région de Sardaigne ; Militello M. et Coll, 2012 pour la région de Sicile² ; Lo. Presti M. et Coll, 2007 pour les régions de Sicile³, Sardaigne et Ile de Lipari ; Pappas R. et Sheppard-Hanger S., 2000 pour les régions des USA et du Maroc ; El Beyrouthy M. et Coll 2011 pour la région du Liban ; Baykan Erel S. et Coll, 2012 pour la région de la Turquie ; Abderrahim A. et Coll, 2010 pour la région d'Algérie.

En comparant le profil chimique des huiles essentielles isolées de la plante *A. arborescens* L. avec celles issues de différentes origines géographiques du monde, nous observons que, seulement, trois composés ont été caractérisés comme constituants majoritaires : β -Thujone, Camphre et Chamazulène (Figure.30)

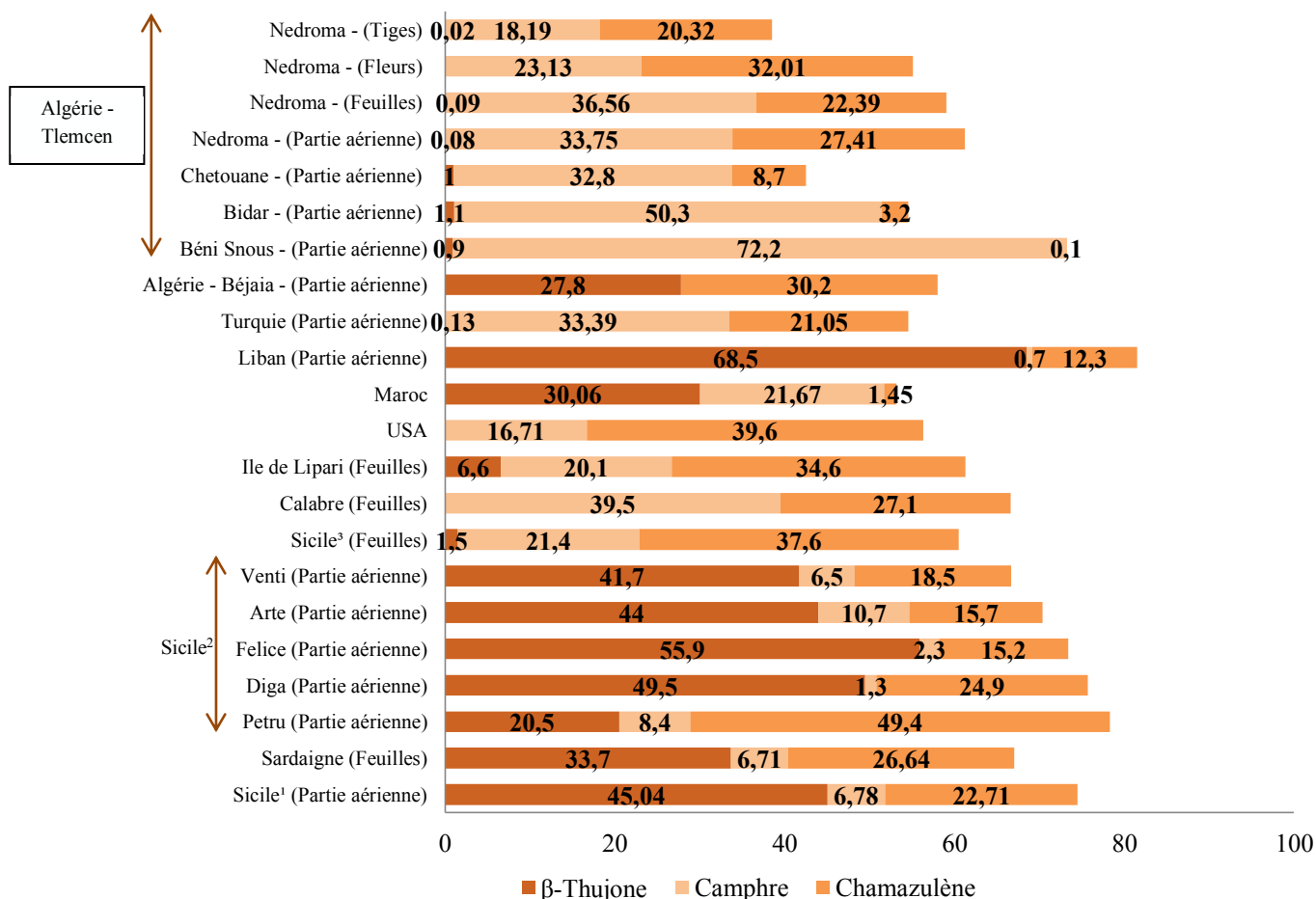


Figure 30. Les pourcentages des chémotypes des huiles essentielles de la plante *A. arborescens* L.

Pour les huiles essentielles de l'espèce *A. arborescens* L. provenant de différentes stations de l'Italie, les trois chémotypes ont été enregistrés. Trois travaux ont été réalisés sur la région de Sicile (Italie) montrant deux chémotypes différents (β -Thujone et Chamazulène), nous pouvons conclure que la composition chimique des huiles essentielles peut varier dans des zones géographiques très restreintes. Les huiles essentielles de la plante *A. arborescens* L. d'origine libanaise et marocaine sont dominées par le composé β -Thujone (68.50% et 30.06%, respectivement). Nous signalons, aussi, l'abondance du composé Chamazulène dans l'huile essentielle de la plante récoltée aux USA (39.60%). Le composé Camphre a été identifié comme un constituant majoritaire de l'huile essentielle de la plante *A. arborescens* L. d'origine turque (33.39%). En Algérie, une seule étude a été effectuée sur l'huile essentielle de l'espèce, récoltée de Béjaia, qui est caractérisée par sa richesse en Chamazulène (30.20%).

Si on se réfère à la notion classique de chémotype, nous pourrions définir notre plante à majorité Camphre pour toutes les régions considérées, à l'exception de celle de Nedroma qui peut se classer, de façon classique, comme chémotype intermédiaire en Camphre – Chamazulène.

A partir des résultats obtenus et en comparant avec ceux de la littérature, nous pouvons dire qu'il y a plusieurs facteurs qui influent sur la composition chimique et le rendement des huiles essentielles tels que : le lieu et la date de récolte, la méthode d'extraction choisie, la partie de la plante utilisée, le stade phénologique, les facteurs écologiques et environnementaux et les facteurs génétiques.

2. Dosage de polyphénols et de flavonoïdes des extraits de la plante *A. arborescens* L.

Différents extraits ont été obtenus, par l'intermédiaire d'un Soxhlet, des poudres des feuilles et des tiges de la plante *A. arborescens* L. récoltée de la région de Zénata - Wilaya de Tlemcen - en utilisant trois solvants : le dichlorométhane, l'éthanol et l'eau. Toutes les données opératoires ont été représentées dans le tableau 6.

Tableau 6. Données opératoires des extractions effectuées sur les feuilles et les tiges de la plante *A. arborescens* L.

Partie utilisée	Masse	Solvant utilisé	Aspect de l'extrait	Couleur de l'extrait	Masse de l'extrait	Rendement
Feuilles	20.00g	Dichlorométhane	Solide	Vert foncé	1.540g	7.70%
Feuilles	20.00g	Ethanol absolu	Visqueux	Marron	0.450g	2.25%
Feuilles	20.00g	Eau distillée	Visqueux	Marron	6.150g	30.75%
Tiges	20.01g	Dichlorométhane	Visqueux	Vert foncé	0.520g	2.60%
Tiges	20.01g	Ethanol absolu	Visqueux	Marron	1.270g	6.35%
Tiges	20.01g	Eau distillée	Visqueux	Marron	4.600g	22.99%

Pour les feuilles et les tiges de la plante, les extractions montrent que les extraits aqueux représentent les rendements les plus élevés (30.75% et 22.99%, respectivement). Les rendements les plus faibles ont été obtenus par l'extrait éthanolique pour les feuilles (2.25%) et l'extrait dichlorométhanique pour les tiges (2.60%).

Les dosages de polyphénols totaux et de flavonoïdes ont été déterminés, respectivement, par les méthodes de Folin – Ciocalteu (F-C) et de chlorure d'aluminium. L'acide gallique et la quercétine

ont été utilisés comme standards. A cause de la non-solubilité des extraits aqueux dans le méthanol, deux courbes d'étalonnage ont été tracées pour chaque dosage, en faisant solubiliser les extraits dans deux solvants différents : les extraits dichlorométhaniques et les extraits éthanoliques dans le méthanol, alors que les extraits aqueux sont solubilisés dans l'eau distillée (Figure. 31, Figure. 32).

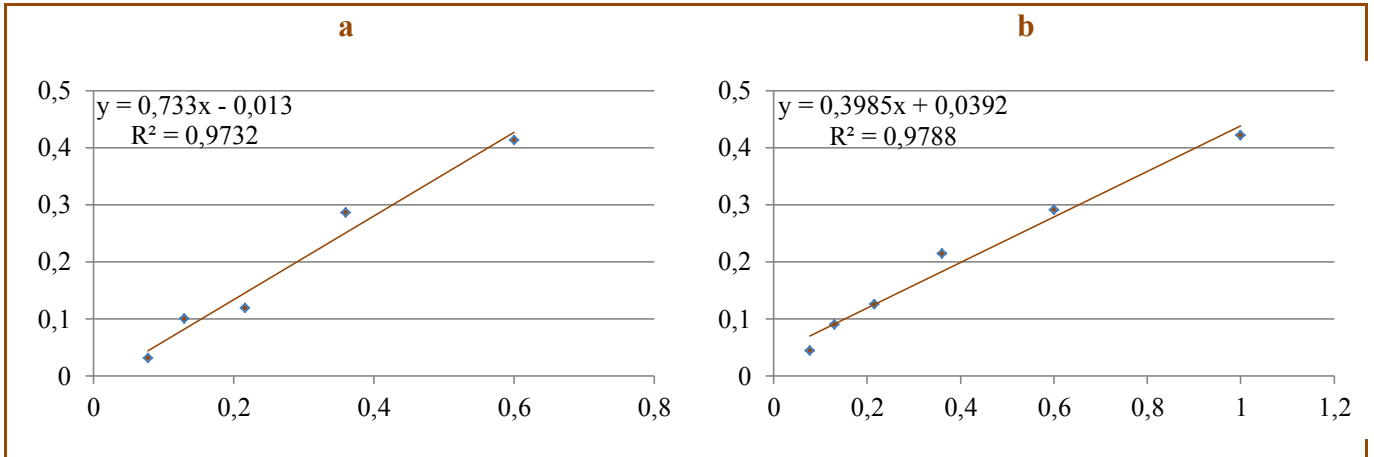


Figure 31. Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux a) dans l'eau, b) dans le méthanol (Absorbance = f (concentration))

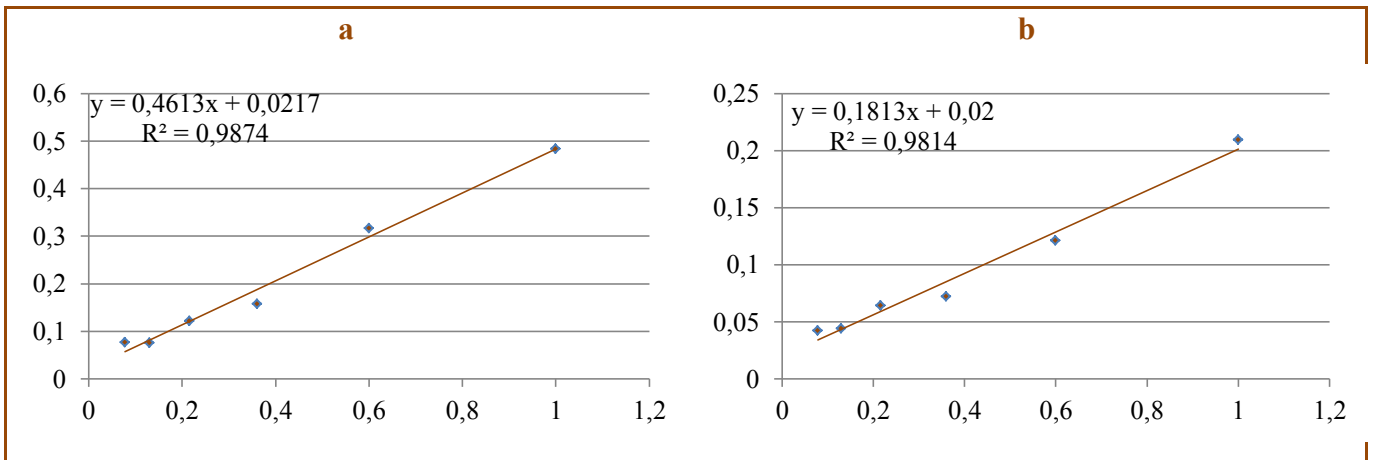


Figure 32. Courbe étalon de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux a) dans l'eau, b) dans le méthanol (Absorbance = f (concentration))

Les résultats du dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes de différents extraits ont été répertoriés dans le tableau 7. La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de la plante est exprimée en milligrammes équivalents en acide gallique par gramme de l'extrait sec. La quantification des flavonoïdes est exprimée en milligrammes équivalents en quercétine par gramme de l'extrait sec.

Tableau 7. Taux de composés phénoliques et de flavonoïdes des extraits de la plante *A. arborescens* L.

mg d'éq/g d'extrait	Ex. DCM Feuilles	Ex. Eth Feuilles	Ex. Aq Feuilles	Ex. DCM Tiges	Ex. Eth Tiges	Ex. Aq Tiges
Polyphénols ^a	32.3779 ± 0.1440	42.0380 ± 0.5362	42.2206 ± 0.0891	43.0578 ± 0.0551	116.1281 ± 0.3136	46.4896 ± 0.0655
Flavonoïdes ^a	702.3496 ± 2.2827	693.0007 ± 3.5357	194.1019 ± 10.1503	151.1554 ± 0.4196	529.6842 ± 1.7347	174.4333 ± 0.1573

^a Les résultats représentent des moyennes ± erreur standard de la moyenne (n=3).

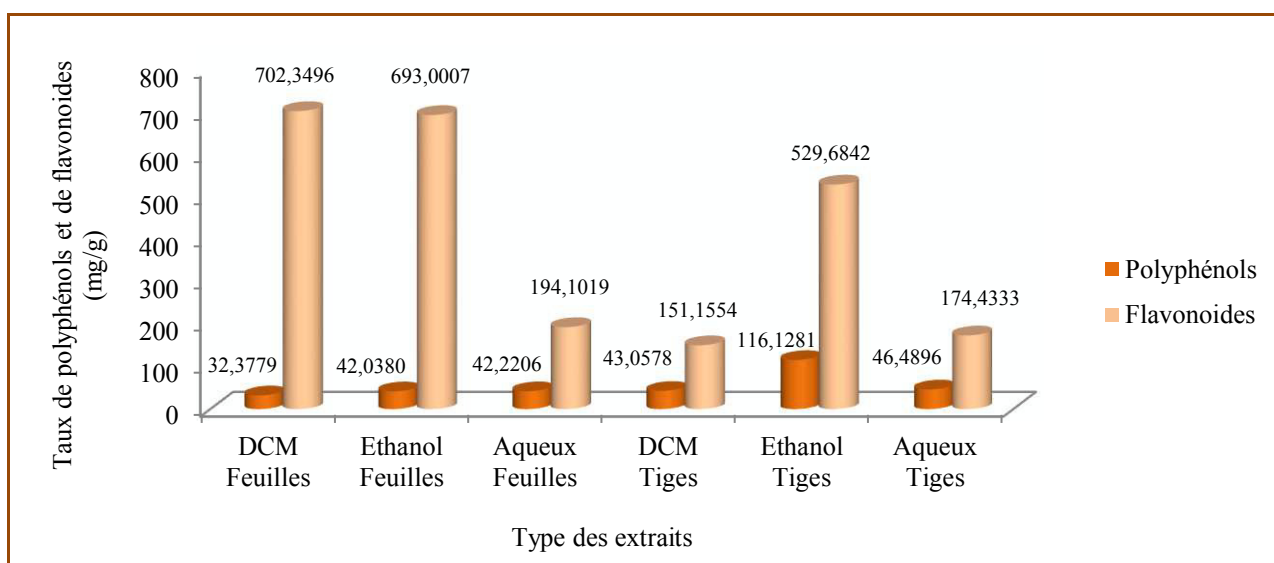


Figure 33. Quantité de composés phénoliques et de flavonoïdes des extraits de la plante *A. arborescens* L.

Une reproductivité a été obtenue pour le dosage des polyphénols parce que l'absorbance mesurée est, nettement, corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisé dans la gamme étalon ($R^2 = 0.9732$ pour le solvant d'eau et $R^2 = 0.9788$ pour le solvant du méthanol).

Les teneurs en composé phénoliques de différents extraits de la plante *A. arborescens* L. sont comprises entre 32.3779 et 42.2206 mg équivalents acide gallique/g pour les feuilles et entre 43.0578 et 116.1281 mg équivalents acide gallique/g pour les tiges. L'extrait éthanolique des tiges renferme la plus grande quantité de composés phénoliques (116.1281 mg/g). Contrairement pour les feuilles, l'extrait aqueux est plus riche en polyphénols (42.2206 mg/g).

Les résultats de la quantification des flavonoïdes montrent une corrélation positive entre la concentration de la quercétine utilisé comme standard et l'absorbance avec un coefficient de corrélation de 0.9874 et 0.9814, respectivement, pour les solvants d'eau et de méthanol. Ce taux de flavonoïdes varie de 194.1019 à 702.3496 mg équivalents quercétine/g pour les feuilles et de 151.1554 à 529.6842 mg/g pour les tiges. Comme pour les composés phénoliques, l'extrait éthanolique des tiges

est, également, riche en flavonoïdes (529.6842 mg/g), suivi de l'extrait aqueux (174.4333 mg/g) puis l'extrait dichlorométhanique (151.1554 mg/g). Tandis que le taux des flavonoïdes des extraits des feuilles varie, inversement, que le taux des polyphénols. L'extrait dichlorométhanique, ayant la quantité la plus faible des composés phénoliques, a montré une teneur, la plus élevée, en flavonoïdes (702.3496 mg/g).

Nous pouvons conclure que l'extrait éthanolique est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir des tiges de la plante *A. arborescens* L., alors que les solvants eau et dichlorométhane sont préférables pour isoler, respectivement, les polyphénols et les flavonoïdes des feuilles de la plante. La différence de taux de polyphénols et de flavonoïdes des extraits de la plante *A. arborescens* L. peut être attribuée à la différence de la solubilité des composés phénoliques due à la polarité des solvants choisis et aussi de la nature chimique de ces composés. Le choix de la méthode d'extraction et de la partie de la plante peut, également, jouer un rôle important dans l'extraction et la quantification des polyphénols et des flavonoïdes.

3. Activité antibactérienne des huiles essentielles

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante *A. arborescens* L., récoltée de trois régions de la wilaya de Tlemcen (Béni Snous, Bidar et Chetouane), a été déterminée par la méthode de diffusion sur agar. Pour ce faire, onze bactéries ont été utilisées : quatre souches à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Enterococcus faecalis* ATCC 49452, *L. monocytogenes* ATCC 15313, sept souches à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. Les résultats obtenus ont été regroupés dans le tableau 8.

Après une incubation durant 24h à 37°C, les zones d'inhibition ont été mesurées. D'après le Tableau 6, les zones d'inhibition varient entre 7 et 22 mm. Toutes les huiles sont inefficaces contre *L. monocytogenes* et *Escherichia coli*. L'huile essentielle de Bidar possède une activité antibactérienne la plus faible comparée aux autres huiles sélectionnées pour cette étude, le diamètre d'inhibition maximal est de 10 mm noté sur la bactérie de *Enterococcus faecalis*. Pour les bactéries à Gram positif, l'huile essentielle de Chetouane montre un effet plus fort avec un maximum de zone d'inhibition de 22 mm de diamètre sur *Enterococcus faecalis* suivi de la souche *Staphylococcus aureus* (15 mm). L'huile essentielle de Béni Snous est active vis-à-vis les souches *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* avec des diamètres d'inhibition, respectivement, de 14, 15, 16.5 mm.

Tableau 8. Activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante *A. arborescens* L.

Microorganismes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
	HE - Bidar-	HE – Béni Snous -	HE – Chetouane -
Bactéries à Gram positif			
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.0	14.0	15.0
<i>Bacillus cereus</i>	na	15.0	13.5
<i>Enterococcus faecalis</i>	10.0	16.5	22.0
<i>L. monocytogenes</i>	na	na	na
Bactéries à Gram négatif			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.0	10.5	13.5
<i>Escherichia coli</i>	na	na	na
<i>Salmonella typhimurium</i>	na	18.0	18.0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	9.0	12.0	12.0
<i>Citrobacter freundii</i>	8.0	15.0	15.0
<i>Proteus mirabilis</i>	9.0	13.5	13.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7.0	15.0	14.0

D'autre part, parmi les sept bactéries à Gram négative utilisées, le microorganisme *Salmonella typhimurium* montre une zone d'inhibition maximale de 18 mm, suivi de *Citrobacter freundii* et *Klebsiella pneumoniae* (15mm). Cette différence de l'activité antibactérienne des huiles essentielles peut être due à la différence de la composition chimique de chaque huile et du microorganisme choisi.

Un autre paramètre important déterminant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne (Harkati B., 2011).

4. Activité anti-radicalaire des extraits de l'espèce *A.arborescens* L.

Les huiles essentielles de la plante *A.arborescens* L. récoltée de trois stations (Béni Snous, Bidar et Chetouane), ainsi que tous les extraits ont été testés pour leur activité anti-radicalaire en utilisant la méthode de DPPH. Ce dernier, de couleur violette en solution, présente un maximum d'absorption à 517 nm. La décoloration peut être évaluée par une mesure spectroscopique de pourcentage de réduction de radical DPPH en fonction du temps. Les figures 34 et 35 présentent l'évolution de pourcentage de réduction de DPPH, respectivement, pour les huiles essentielles et les extraits en fonction du temps.

L'acide ascorbique et l'acide tannique ont été utilisés comme des antioxydants de référence pour l'estimation de pouvoir anti-radicalaire des huiles essentielles. Le meilleur pourcentage de piégeage du radical DPPH (100% après 15 min d'incubation) a été observé pour les antioxydants

synthétiques (Acide ascorbique et Acide tannique) à la dose de 40 mg/ml et 60 mg/ml. L'activité anti-radicalaire des huiles essentielles dépend de la concentration de celles-ci. Pour l'huile essentielle de Béni Snous, à la dose de 100 mg/ml et après 210 min d'incubation à la température ambiante, le pourcentage de réduction de DPPH était 87.07%, alors qu'à la dose de 10 mg/ml, le pourcentage était, seulement, 36.04%. Les huiles essentielles de Bidar et Chetouane montrent, à la dose de 20 mg/ml, un effet anti-radicalaire plus fort (84.16 % après 15 min d'incubation et 80.23 % après 25 min d'incubation, respectivement).

Pour l'activité anti-radicalaire des extraits de la plante, différentes concentrations ont été testées variant de 0.23 mg/ml à 3 mg/ml. L'acide ascorbique et l'acide gallique ont été utilisés comme standards. Les pourcentages de réduction de DPPH les plus importants ont été détectés pour les antioxydants de référence (98.23 % pour l'acide ascorbique à la dose de 0.39 mg/ml et 98.50% pour l'acide gallique à la concentration de 1.08 mg/ml, après seulement 1 min d'incubation). Concernant l'effet anti-radicalaire des extraits, nous remarquons que les extraits des tiges sont plus actifs que les extraits des feuilles.

Concernant les extraits isolés des tiges de la plante *A. arborescens* L., après un temps d'incubation de 180 min, l'extrait éthanolique montre un effet anti-radicalaire plus important que les autres extraits. En effet, le meilleur pourcentage d'inhibition de l'extrait éthanolique était 93.32% à la dose de 0.65 mg/ml, alors que les pourcentages d'inhibition de DPPH les plus élevés, des extraits dichlorométhanique et aqueux, étaient, respectivement, 82.55% à la concentration de 3mg/ml et 91.17% à la dose de 1.08 mg/ml.

Pour les feuilles de la plante *A. arborescens* L., le plus grand pourcentage de réduction de DPPH a été détecté pour l'extrait aqueux (94.73% à la dose de 1.80 mg/ml, après 3h d'incubation). Les extraits dichlorométhanique et éthanolique montrent des pouvoirs anti-radicalaires moindres avec des pourcentages de réduction, respectivement, de 66.88% à la concentration 1.80 mg/ml et 91.28% à la dose de 0.39 mg/ml.

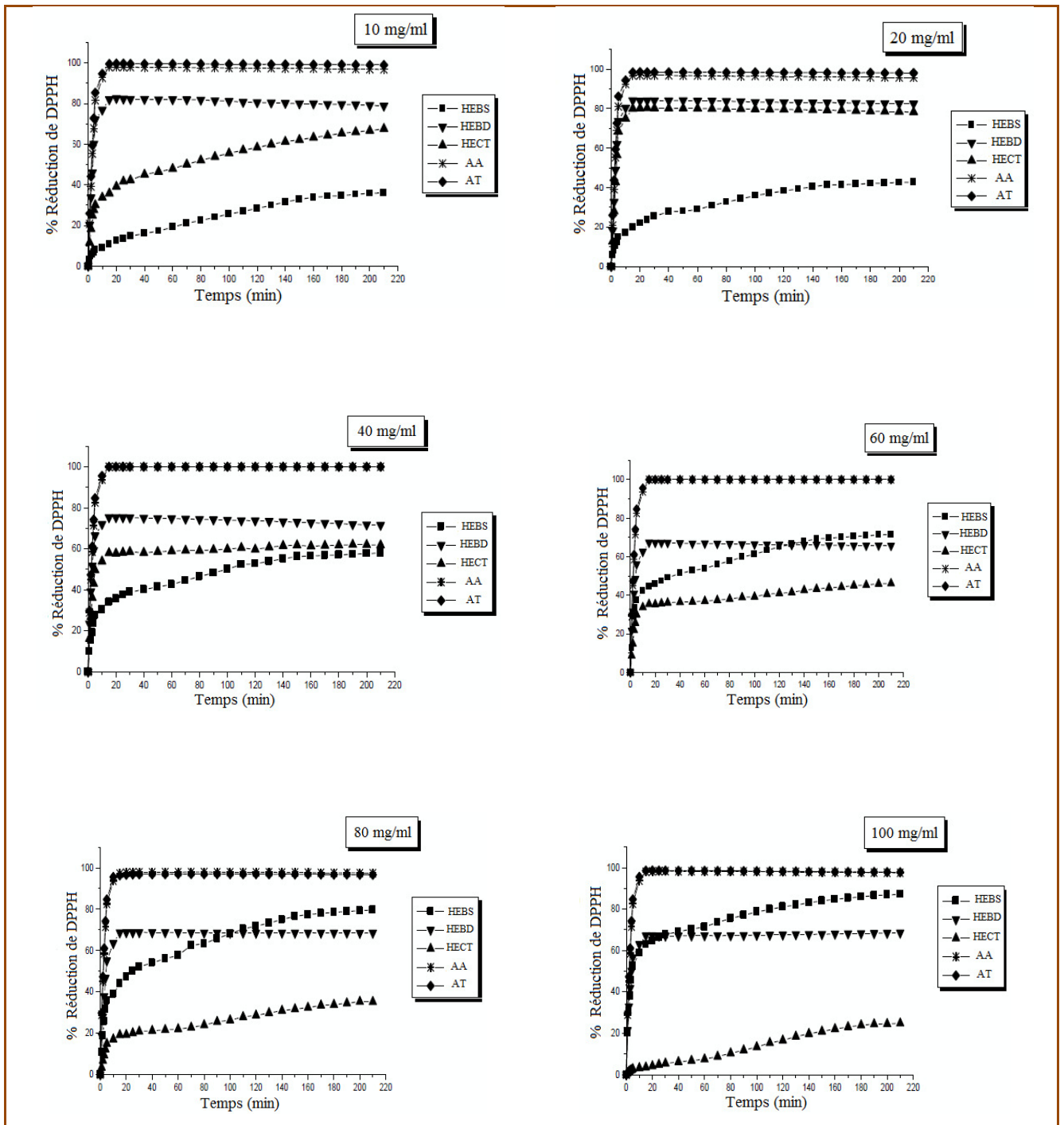


Figure 34. Pourcentage de réduction de DPPH en fonction du temps. HEBS : huile essentielle de Béni Snous, HEBD : huile essentielle de Bidar, HECT : huile essentielle de Chetouane, AA : acide ascorbique, AT : acide tannique.

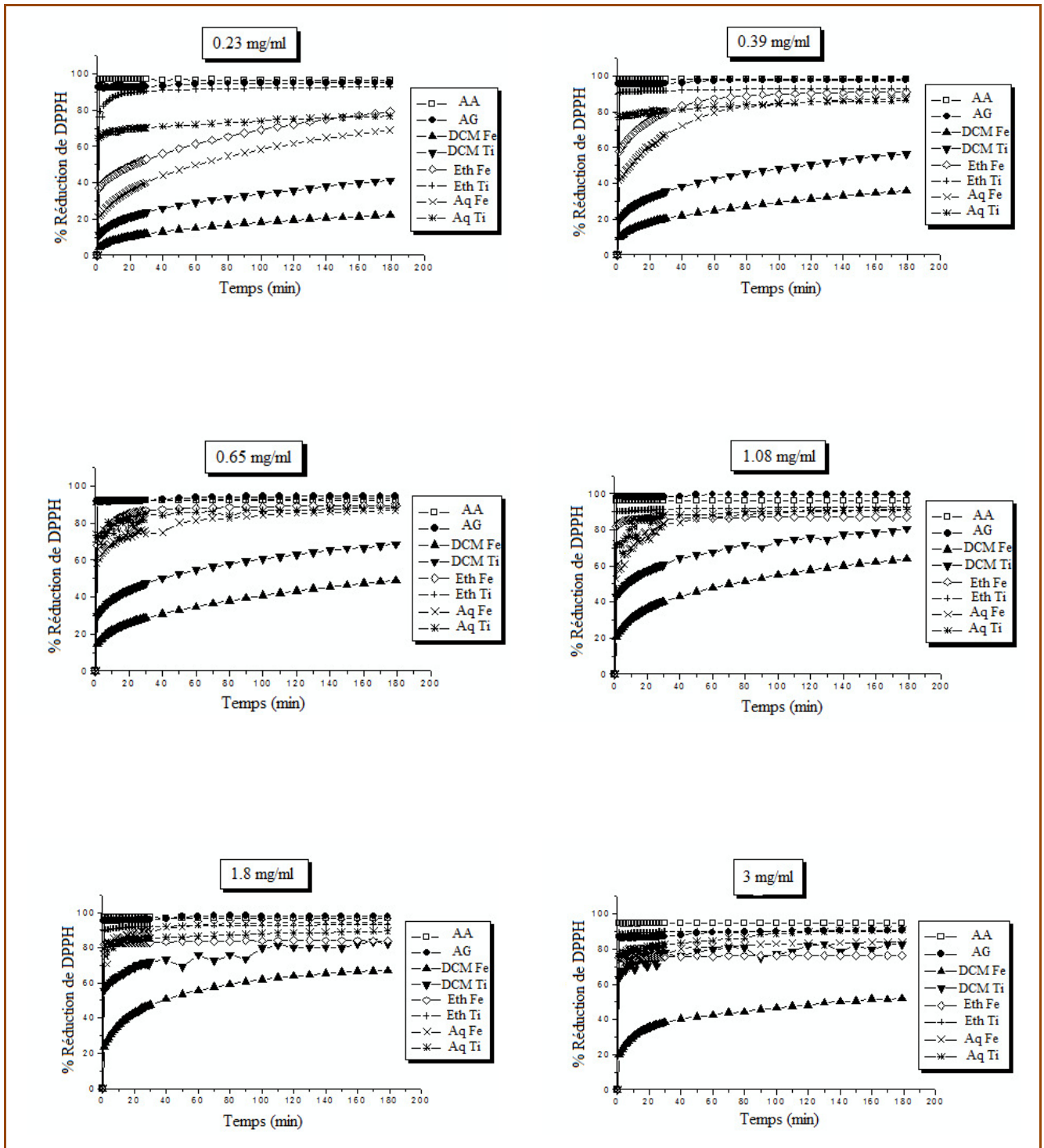


Figure 35. Pourcentage de réduction de DPPH en fonction du temps. AA : Acide ascorbique, AG : Acide gallique, DCM Fe : Extrait dichlorométhane des feuilles, DCM Ti : Extrait dichlorométhane des tiges, Eth Fe : Extrait éthanolique des feuilles, Eth Ti : Extrait éthanolique des tiges, Aq Fe : Extrait aqueux des feuilles, Aq Ti : Extrait aqueux des tiges.

Pour mieux comprendre la réactivité de DPPH avec un échantillon testé, le paramètre de CI_{50} a été introduit. Il représente la concentration de l'antioxydant correspondant à une réduction de 50% de DPPH. Les figures 36 et 37 montrent les valeurs de CI_{50} , respectivement, des huiles essentielles et des extraits de la plante *A. arborescens* L. L'activité de piégeage de radical a été mesurée après 60 min de réaction.

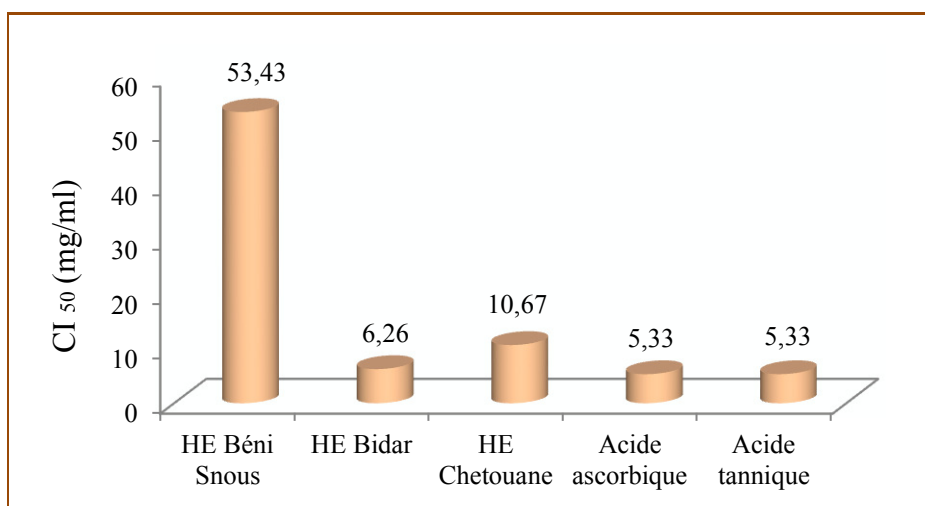


Figure 36. Valeurs de CI_{50} des huiles essentielles de la plante *A. arborescens* L. et des antioxydants de référence

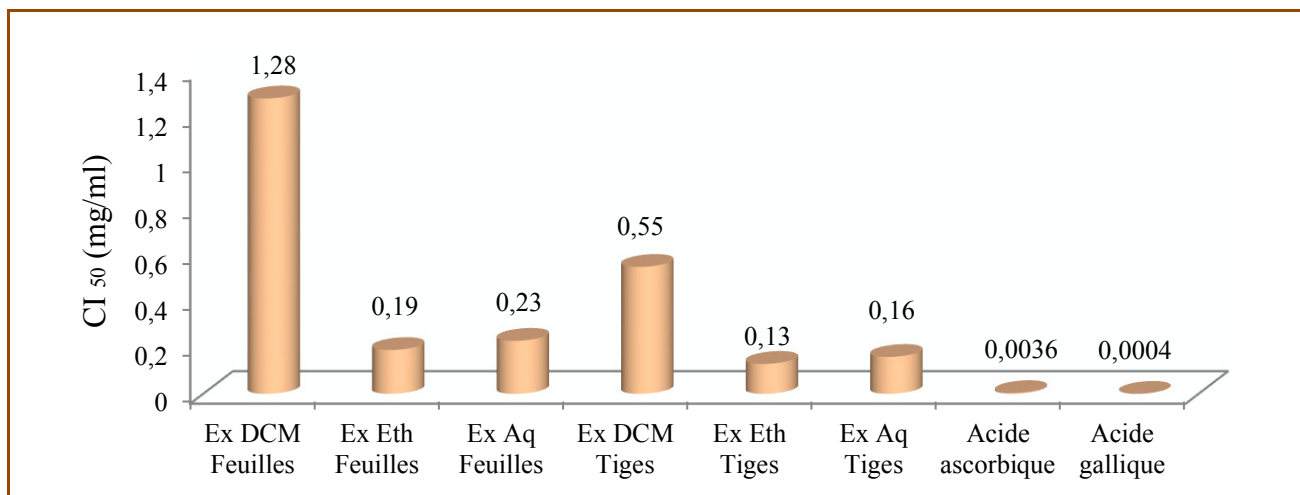


Figure 37. Valeurs de CI_{50} des extraits de la plante *A. arborescens* L. et des antioxydants de référence

Plus la valeur de CI_{50} est petite, plus l'activité anti-radicalaire est élevée. Nous concluons que l'huile essentielle de la plante récoltée à Bidar semble avoir l'effet réducteur le plus puissant sur le radical de DPPH (CI_{50} = 6.26 mg/ml, proche des CI_{50} des antioxydants de référence CI_{50} = 5.33 mg/ml), suivi de l'huile essentielle de Chetouane (10.67 mg/ml), puis l'huile essentielle de Béni Snous (CI_{50} = 53.43 mg/ml) qui montre un effet anti-radicalaire le plus faible. La lecture de figure 25 montre les

valeurs de CI_{50} de différents extraits et des antioxydants utilisés comme standards. L'ordre d'efficacité est le suivant : Acide gallique > Acide ascorbique > Ex Eth Tiges > Ex Aq Tiges > Ex Eth Feuilles > Ex Aq Feuilles > Ex DCM Tiges > Ex DCM Feuilles.

Pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire, des paramètres cinétiques sont introduits, tels que le temps $T_{CI_{50}}$ nécessaire pour atteindre l'équilibre à CI_{50} .

L'estimation de $T_{CI_{50}}$ permet d'introduire la classification suivante:

- $T_{CI_{50}} < 5$ min (réaction rapide).
- $5 < T_{CI_{50}} < 30$ min (réaction intermédiaire).
- $T_{CI_{50}} > 30$ min (réaction lente).

L'indice de l'efficacité anti-radicalaire [$EAR = 1/(CI_{50} \cdot T_{CI_{50}})$] relie la concentration du DPPH• et le temps $T_{CI_{50}}$ dans l'essai avec la concentration effective CI_{50} de l'échantillon, et résulte dans un paramètre constant pour chaque solution ou extrait. Les valeurs de $T_{CI_{50}}$ sont déterminées, graphiquement, en portant pour chaque échantillon le temps d'équilibre en fonction de la concentration.

L'activité anti-radicalaire est faible pour $EAR < 1.10^{-3}$, intermédiaire entre 1.10^{-3} et 5.10^{-3} , élevée entre 5.10^{-3} et 10.10^{-3} , très élevée pour $EAR > 10.10^{-3}$ (Popovici C. et Coll, 2009).

Les paramètres caractéristiques de la cinétique de la réaction du DPPH sont cités dans le tableau 9.

Tableau 9. Paramètres caractéristiques de la cinétique de réduction du radical DPPH

Extraits	CI_{50} (mgAO/ml)	CI_{50} (mgAO/gDPPH)	$T_{CI_{50}}$ (min)	$EAR (\times 10^{-3})$	Classification
<i>Méthode 1</i>					
HE Béni Snous	53.43	55 656.25	193.167	0.0930×10^{-3}	Faible
HE Bidar	6.26	6 520.83	9.509	0.0161	Faible
HE Chetouane	10.67	11 114.58	194.912	0.0462×10^{-2}	Faible
Acide ascorbique	5.33	5 552.08	7.950	0.0226	Faible
Acide tannique	5.33	5 552.08	7.950	0.0226	Faible
<i>Méthode 2</i>					
Ex DCM Feuilles	1.28	23 703.70	177.965	0.0237×10^{-2}	Faible
Ex Eth Feuilles	0.19	3 518.52	150.655	0.0189×10^{-1}	Faible
Ex Aq Feuilles	0.23	4 259.26	179.000	0.0131×10^{-1}	Faible
Ex DCM Tiges	0.55	10 185.18	177.261	0.0554×10^{-2}	Faible
Ex Eth Tiges	0.13	2 407.41	81.939	0.0507×10^{-1}	Faible
Ex Aq Tiges	0.16	2 962.96	114.816	0.0294×10^{-1}	Faible
Acide ascorbique	0.0036	66.67	0.020	749.96	Très élevée
Acide gallique	0.0004	7.41	1.156	116.74	Très élevée

Pour la méthode 1, les réactions entre le DPPH et l'huile essentielle de Bidar ainsi les antioxydants de référence sont des réactions intermédiaires. Contrairement aux huiles essentielles de Béni Snous et Chetouane, les réactions sont assez lentes. Selon leurs indices de l'efficacité anti-radicalaire, toutes les huiles essentielles et les antioxydants naturels présentent un effet anti-radicalaire faible.

Au vu des résultats de la méthode 2, toutes les réactions des extraits de la plante *A. arborescens* L., sont lentes ($T_{CI50} > 30$ min). Dans le cas des antioxydants standards (Acide ascorbique et Acide gallique), les réactions avec le DPPH sont assez rapides. En se basant sur les valeurs de l'efficacité anti-radicalaire, on obtient le classement suivant (par ordre décroissant) : Acide ascorbique > Acide gallique > Ex Eth Tiges > Ex Aq Tiges > Ex Eth Feuilles > Ex Aq Feuilles > Ex DCM Tiges > Ex DCM Feuilles.

La corrélation entre le contenu en polyphénols et flavonoïdes des extraits des feuilles et des tiges de la plante *A. arborescens* L. et leur activité anti-radicalaire (CI_{50}) a été étudiée^(Figure. 38).

L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une corrélation remarquable ($R^2=0.9976$) entre le taux de polyphénols des extraits des feuilles de l'espèce *A. arborescens* L. et leur activité anti-radicalaire (CI_{50}). En effet, les polyphénols sont reconnus comme des substances, potentiellement, antioxydantes qui ont la capacité de piéger les radicaux libres. Cependant, dans le cas de flavonoïdes des extraits des feuilles, une corrélation faible ($R^2=0.2360$) a été obtenu entre le contenu des flavonoïdes des extraits et leur pouvoir anti-radicalaire. Cette constatation pourrait indiquer que les flavonoïdes ne sont pas de principaux piégeurs de radicaux libres présents dans les extraits des feuilles de *A. arborescens* L.

Pour les extraits de tiges de la plante *A. arborescens* L., une corrélation faible a été mis en évidence entre l'effet anti-radicalaire des extraits et leur contenu en polyphénols ($R^2=0.3464$) et en flavonoïdes ($R^2= 0.3591$). Ce résultat peut être justifié par le fait que l'activité anti-radicalaire des extraits de tiges de *A. arborescens* L. n'est pas, principalement, due aux composés phénoliques et flavonoïdes présents dans ces extraits.

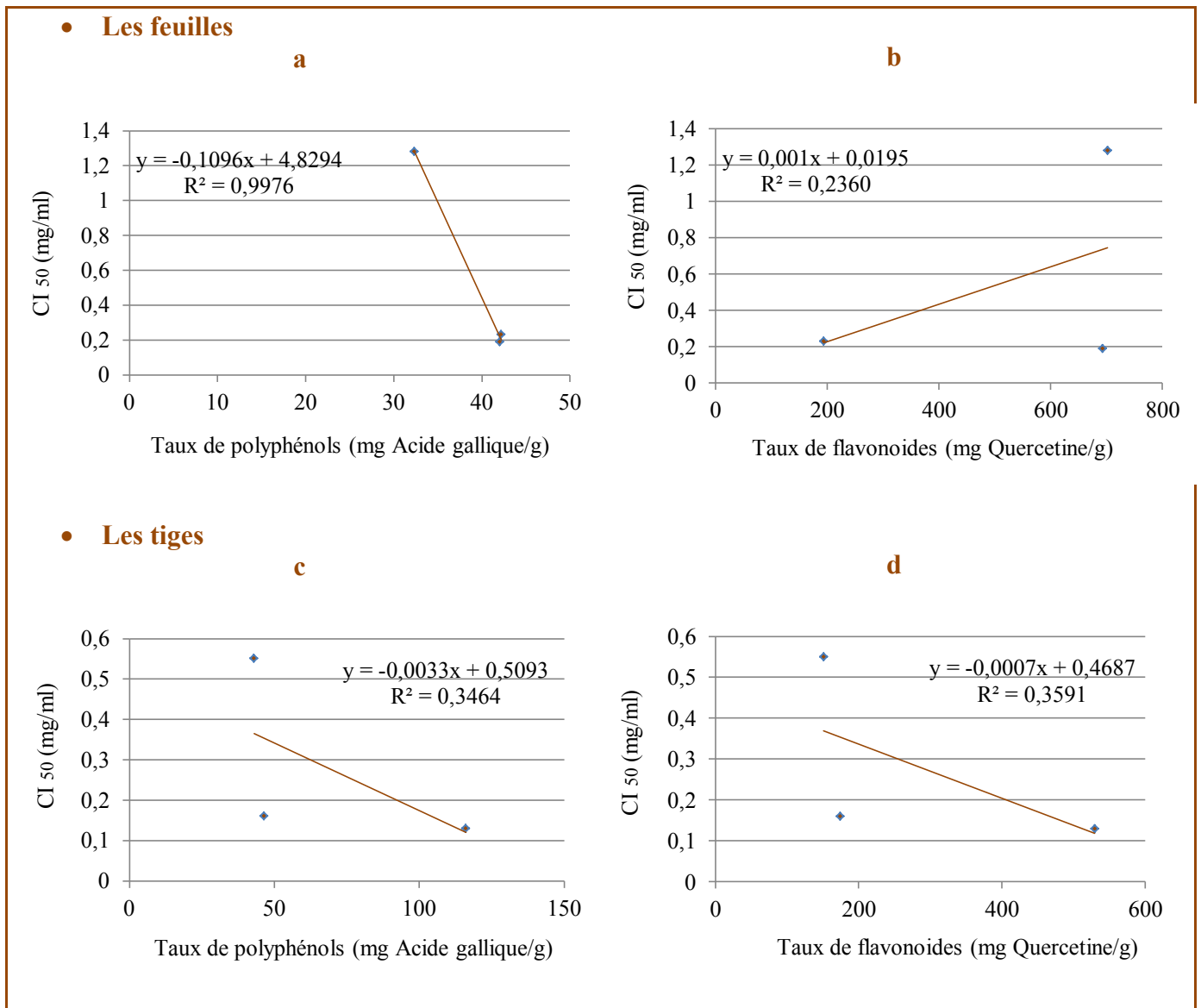


Figure 38. Corrélation entre le taux de polyphénols et de flavonoïdes et l'activité anti-radicalaire (CI₅₀) : a) Polyphénols des feuilles, b) Flavonoïdes des feuilles, c) Polyphénols des tiges, d) Flavonoïdes des tiges.

5. Activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la plante *A.arborescens* L.

A. arborescens L. est utilisé pour le traitement du diabète. L'infusé de la partie aérienne possède une activité hypoglycémiant. Selon nos connaissances, aucune activité pharmacologique portant sur ce thème n'a été étudiée sur cette plante. Notre expérience représente le premier travail qui tend à investiguer l'activité antidiabétique de cette plante.

5.1. Recherche de la toxicité aigüe de l'extrait aqueux

Une administration de l'extrait aqueux à raison de 3g/kg, aucune toxicité apparente provoquant la mortalité des rats n'a été enregistrée. Du fait, la dose 200 mg/kg a été choisie pour la recherche de l'activité antidiabétique de la plante.

5.2. Effet de l'extrait sur la glycémie

Une administration de l'extrait aqueux de la plante *A. arborescens* L. aux différents groupes de rats a été réalisée. Les résultats, montrant les variations de la glycémie, sont représentés dans le tableau 10.

Tableau 10. Variations de la glycémie (g/l) des rats après le traitement par l'extrait aqueux à 200 mg/kg

Temps	0	1 semaine	2 semaines
Normaux témoins	0.9100 ± 0.0682	0.9767 ± 0.0754	0.7233 ± 0.0546
Normaux traités	0.7733 ± 0.0809	0.9033 ± 0.0546	0.6933 ± 0.0348
Diabétiques témoins	2.9550 ± 0.2964	2.8400 ± 0.5852	2.6033 ± 0.9064
Diabétiques traités	2.3267 ± 0.6376	1.0800* ± 0.1323	0.7600 ± 0.0351

* (P<0.05) par rapport aux rats diabétiques témoins.

Pour les rats normaux (traités ou non traités), nous remarquons qu'il n'y a pas de changement important de la glycémie. Tandis que pour les rats diabétiques traités, une diminution de la glycémie, variant de 2.3267 à 0.7600 g/l, a été enregistré. Chez les rats diabétiques non traités (témoins), le taux de la glycémie reste stable.

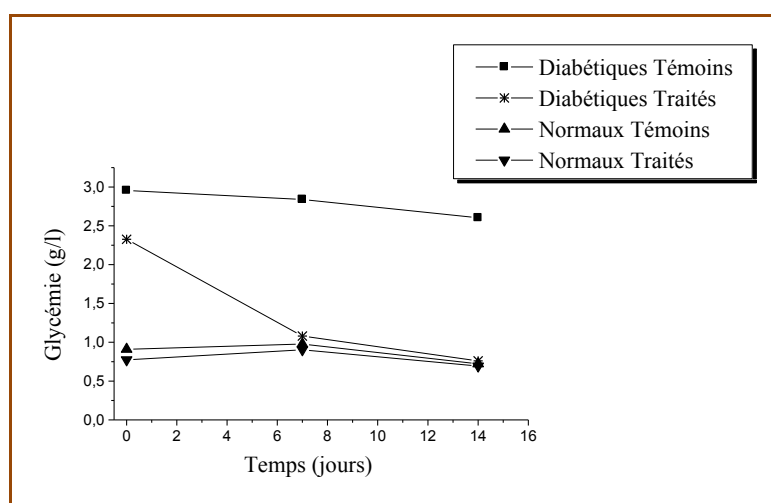


Figure 39. Effet de l'extrait sur l'évolution de la glycémie

5.3. Effet de l'extrait sur le poids corporel des rats

Les résultats relatifs à l'évolution du poids des rats durant les deux semaines de traitement par l'extrait aqueux de l'espèce *A. arborescens* L. à la dose de 200 mg/kg sont regroupés dans le tableau 11 (Figure. 40).

Tableau 11. Evolution du poids des rats normaux et diabétiques (traités et témoins) durant les deux semaines de traitement par 200 mg/kg de l'extrait aqueux

Temps	0	1 semaine	2 semaines
Normaux témoins	237.5000 ± 1.8930	267.7500 ± 5.0229	247.2500 ± 14.6707
Normaux traités	211.0000 ± 3.8079	221.0000 ± 5.4467	239.7500 ± 5.5584
Diabétiques témoins	260.7500 ± 16.7450	285.0000 ± 18.1430	264.5000 ± 16.3325
Diabétiques traités	260.6667 ± 35.6947	273.0000 ± 42.1426	239.6667 ± 41.4662

Les rats ont été pesés, régulièrement, au cours de l'expérience. Chez les rats normaux traités, une augmentation importante du poids a été observée. Pour les autres rats, nous observons une augmentation du poids corporel des rats, puis une diminution de celui-ci dès la première semaine du traitement.

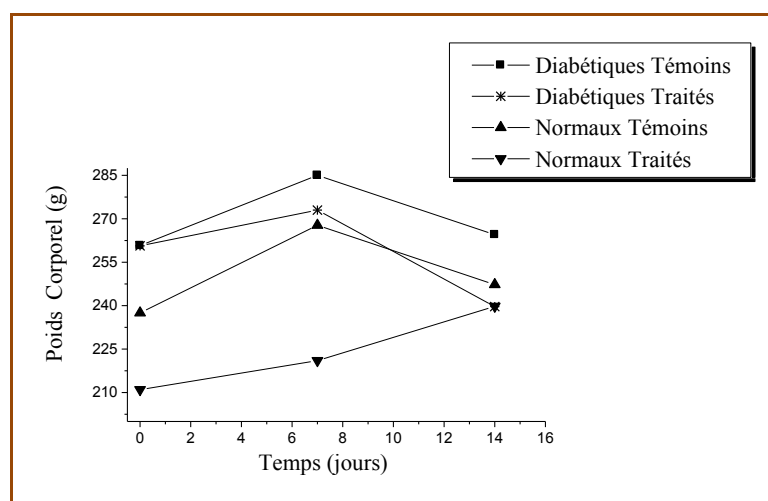


Figure 40. Effet de l'extrait sur le poids corporel

5.4. Test de tolérance orale au glucose

Après le gavage du glucose à la concentration de 3g/kg, l'évolution de la glycémie de quatre groupes de rats testés est suivie sur une durée de deux heures de traitement. Les résultats du test de tolérance orale au glucose sont reportés dans le tableau 12 (Figure. 41).

Tableau 12. Variations de la glycémie (g/l) des rats pendant deux heures après administration, par voie orale, du glucose à la dose de 3g/kg

Temps	0	60 min	120 minutes
Normaux témoins	0.6850 ± 0.0278	0.7825 ± 0.0403	0.8325 ± 0.0477
Normaux traités	0.7625 ± 0.0384	0.8225 ± 0.0837	0.6075 ± 0.0780
Diabétiques témoins	2.6033 ± 0.9064	3.5733 ± 0.6929	3.0833 ± 0.9767
Diabétiques traités	0.8100 ± 0.0800	2.2733 ± 0.5406	1.2500 ± 0.3907

Nous remarquons une augmentation de la glycémie chez tous les rats. L'extrait aqueux a un effet positif sur la réponse des rats traités (normaux ou diabétiques). Nous constatons une différence très significative en comparant l'évolution de la glycémie des rats diabétiques traités avec celle des rats diabétiques non traités. Pour les rats normaux, une forte augmentation de la glycémie des rats non traités par rapport à celle des rats traités a été enregistrée.

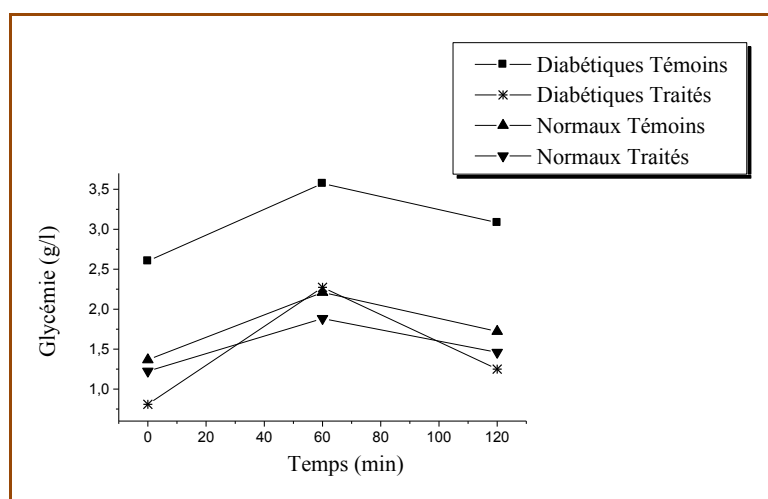


Figure 41. Effet de l'extrait sur la tolérance orale au glucose

5.5. Test de tolérance intrapéritonéale au glucose

L'évolution de la glycémie de quatre groupes de rats (normaux et diabétiques) est suivie sur une durée de deux heures après administration, par voie péritonéale, d'une solution de glucose à raison de 3g/kg du poids corporel. Les résultats du test de tolérance intrapéritonéale au glucose sont cités dans le tableau 13 (Figure. 42).

Tableau 13. Variations de la glycémie (g/l) des rats pendant deux heures après administration, par voie péritonéale, du glucose à la dose de 3g/kg.

Temps	0	60 min	120 minutes
Normaux témoins	0.9767 ± 0.0754	1.2400 ± 0.0000	1.2567 ± 0.0186
Normaux traités	0.9033 ± 0.0546	1.0900 ± 0.0850	1.1100 ± 0.0503
Diabétiques témoins	1.1775 ± 0.1542	2.3775 ± 0.4877	1.5850 ± 0.2230
Diabétiques traités	1.0800 ± 0.1323	3.4367 ± 0.8367	2.2767 ± 0.5109

Une heure après le gavage avec du glucose, nous constatons une augmentation de la glycémie chez tous les rats diabétiques et normaux (témoins et traités). Cette élévation est très remarquable chez les rats diabétiques traités. Chez les rats diabétiques, une diminution progressive de la glycémie a été observée jusqu'à la fin de l'expérience.

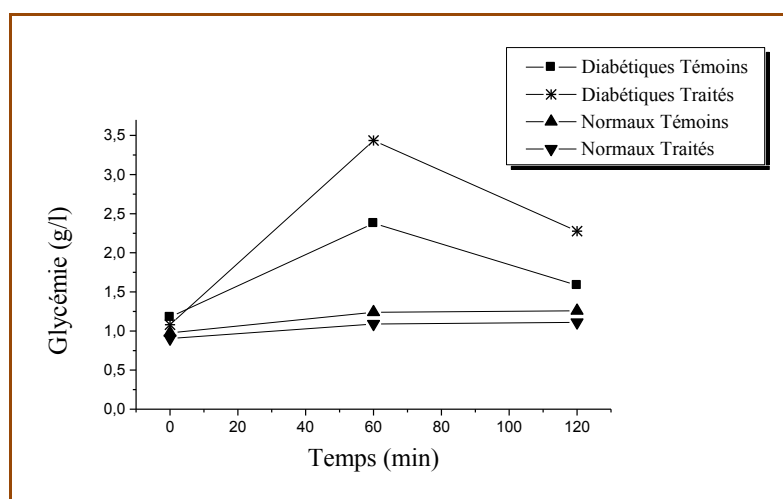


Figure 42. Effet de l'extrait sur la tolérance intrapéritonéale au glucose

Plusieurs mécanismes d'action sont impliqués dans la réduction du niveau de glucose dans le sang, dus à la présence d'une grande variété de classes chimiques des constituants hypoglycémiantes provenant des plantes.

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes : (Jarald E. et Coll, 2008)

- Blocage du canal du potassium des cellules β pancréatiques et stimulation de l'AMP c (second messenger).
- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules β .
- Réduction de la résistance à l'insuline.
- Apport de quelques éléments nécessaires pour les cellules β comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre.

- Régénération et/ou réparation des cellules β pancréatiques.
- Augmentation du volume et du nombre de cellules dans les îlots de Langerhans.
- Stimulation de la glycogénèse et de la glycolyse hépatique.
- Effet protecteur de la destruction des cellules β .
- Inhibition de α -glucosidase.
- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules β observé dans le diabète.

En conclusion, cette étude reste toujours préliminaire, nous devons, dans le futur, isoler et purifier la ou les molécules actives vis-à-vis du diabète sucré, et rechercher les mécanismes d'action de ces substances pures comme de principes actifs antidiabétiques.

Chapitre IV

Cardaria draba (L.) Desv. -Résultats et discussion-

Résumé : Comme pour le chapitre précédent, cette partie expose la démarche expérimentale avec une discussion détaillée des résultats obtenus.

Deux huiles essentielles ont été extraites, respectivement, de la partie aérienne et des feuilles de la plante *Cardaria draba* (L.) Desv. Le profil chimique a été déterminé par les techniques de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM). Deux nouveaux chémotypes ont été obtenus : 6,10,14-Triméthyl-2-pentadécane pour la partie aérienne et (E)-Phytol pour les feuilles de l'espèce algérienne *C. draba* (L.) Desv. (Page 89).

Les dosages de polyphénols et de flavonoïdes effectués, respectivement, par la méthode de Folin-Ciocalteu (F-C) et la méthode de chlorure d'aluminium sur les différents extraits de la plante *C. draba* (L.) Desv. montrent que tous ces extraits sont, remarquablement, riches en composés phénoliques et en flavonoïdes (Page 93).

Enfin, le pouvoir anti-radicalaire de cette espèce sélectionnée a été évalué par la méthode de DPPH en comparant avec celui des antioxydants de référence : Acide ascorbique et Acide gallique (Page 95)

1. Caractérisation chimique des huiles essentielles

L'huile essentielle de cette espèce récoltée en Algérie n'a été jamais étudiée et sa composition chimique reste, toujours, inconnue. Les huiles essentielles de couleur transparente pour la partie aérienne et jaune pâle pour les feuilles de l'espèce *C. draba* (L.) Desv. ont été isolées par la méthode d'hydrodistillation. Les rendements de l'extraction sont de l'ordre de 0.087% et 0.012% par rapport à la matière sèche, respectivement, pour la partie aérienne et les feuilles de la plante. En comparant ce résultat avec celui de l'étude effectuée par Radonić A. et Coll (2011) sur la partie aérienne de cette espèce récoltée de la région de la Croatie (rendement est de 0.02 %), nous remarquons que la plante *C. draba* (L.) Desv. d'origine algérienne est plus riche en huile essentielle que celle de la Croatie.

La caractérisation quantitative et qualitative des huiles essentielles récupérées a été réalisée à l'aide de deux techniques chromatographiques : la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM). Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 14. Trente-neuf composés ont été détectés dont trente-huit ont été identifiés dans l'huile essentielle de la partie aérienne de la plante *C. draba* (L.) Desv. correspondant à 68.25% de la composition totale. La fraction des composés carbonylés constitue la majorité de la composition de l'huile essentielle (35.24%) avec le 6,10,14-Triméthyl-2-pentadécane comme un composé prédominant (20.61%). Un complexe de trente-sept composés identifiés, constituant 77.63% de la quantité totale de l'huile essentielle des feuilles de *C. draba* (L.) Desv., a été obtenu. Elle est, principalement, composée de diterpènes (41.62%) avec la richesse de (E)-Phytol (39.67%).

La présence d'autres constituants dont la concentration est supérieure de 2%, a été également déterminée. Parmi lesquels, nous pouvons citer : pour l'huile essentielle de la partie aérienne (α -Cubébène: 2.28%, (E)-Phytol: 11.38%, Décane: 7.11%, β -Ionone: 2.01%, 1,2-dihydro-1,1,6-triméthyl-naphthalène: 2.06%, (E)-Anéthol: 2.03%, β -Ionol: 2.06%), tandis que pour les feuilles (β -Ionone: 2.57%, 6, 10,14-Triméthyl-2-pentadécane : 11.08%, Acide décanoïque: 3.19%, Acide undécanoïque : 2.36%).

A partir de cette comparaison, nous pouvons dire que le facteur du changement de la partie de la plante utilisée joue un rôle important dans la variabilité de la composition chimique et le rendement de l'huile essentielle de la partie aérienne et des feuilles de l'espèce *C. draba* (L.) Desv.

Tableau 14. Composition chimique des huiles essentielles de la plante *C. draba* (L.) Desv en fonction de la partie étudiée

N°	Composés	IR ^a	IR ^b	Partie aérienne	Feuilles
				0.81%	0.80%
<i>Monoterpènes hydrocarbonés</i>					
1	α -Pinène	931	1022	0.30	0.20
2	Sabinène	964	1120	0.30	0.47
3	Myrcène	976	1159	0.21	0.13
				0.81%	0.98%
<i>Monoterpènes oxygénés</i>					
4	Linalol	1081	1544	0.64	0.76
5	β -Thujone	1103	1422	0.17	0.22
				2.28%	0.18%
<i>Sesquiterpènes hydrocarbonés</i>					
6	α -Cubébène	1350	1452	2.28	0.18
				13.24%	41.62%
<i>Diterpènes</i>					
7	Isophytol	1946	2292	1.15	1.64
8	(Z)-Phytol	2080	2572	0.71	0.31
9	(E)-Phytol	2107	2617	11.38	39.67
				35.24%	18.06%
<i>Composés carbonylés</i>					
10	(E)-2- Hexénal	830	1213	0.52	0.23
11	Benzaldéhyde	929	1525	0.72	0.60
12	Nonanal	1083	1394	0.46	0.22
13	Décanal	1185	1498	7.11	0.13
14	Nérylyl acétone	1410	1825	1.24	0.57
15	Géranyl acétone	1428	1851	1.09	1.48
16	β -Ionone	1466	1936	2.01	2.57
17	(E, E)-farnésyl acétone	1895	2366	0.74	1.18
18	6, 10,14-Triméthyl-2-pentadécane	1830	2117	20.61	11.08
19	6-Méthyl-hept-5-en-2-one	961	1327	0.74	/
				6.77%	7.73%
<i>Composés hydrocarbonés</i>					
20	Tridécane	1300	1300	0.09	0.78
21	1,2-dihydro-1, 1,6-triméthyl-naphthalène	1332	/	2.06	0.41
22	Pentadécane	1500	1500	0.32	0.19
23	Hexadécane	1600	1600	0.34	0.09
24	Octadécane	1800	1800	0.57	0.61
25	Eicosane	2000	2000	/	0.29
26	Heneicosane	2100	2100	0.85	1.75
27	Docosane	2200	2200	0.36	0.39
28	Tricosane	2300	2300	1.00	1.88
29	Pentacosane	2500	2500	1.18	1.34
				3.64%	6.58%
<i>Acides gras</i>					
30	Acide nonanoïque	1269	/	0.75	/
31	Acide décanoïque	1360	/	0.30	3.19
32	Acide undécanoïque	1488	/	1.34	2.36
33	Acide dodécanoïque	1556	/	0.62	0.47
34	Acide tridécanoïque	1668	/	0.18	0.35
35	Acide tétradécanoïque	1772	/	0.45	0.21
				2.03%	0.51%
<i>Phénylpropènes</i>					
36	(E)-Anéthol	1264	1828	2.03	0.51
				3.43%	1.17%
<i>Autres</i>					
37	Acétate de butyle	791	1031	0.14	0.06
38	β -Ionol	1409	1915	2.06	0.46
39	Phtalate de butyle	1909	/	1.23	0.65
				68.25%	77.63%
<i>Composés identifiés</i>		/	/		
<i>Rendement</i>		/	/	0.087%	0.012%

^aIndices de rétention de la colonne apolaire Rtx-1.^b Indices de rétentions de la colonne polaire Rtx-Wax.

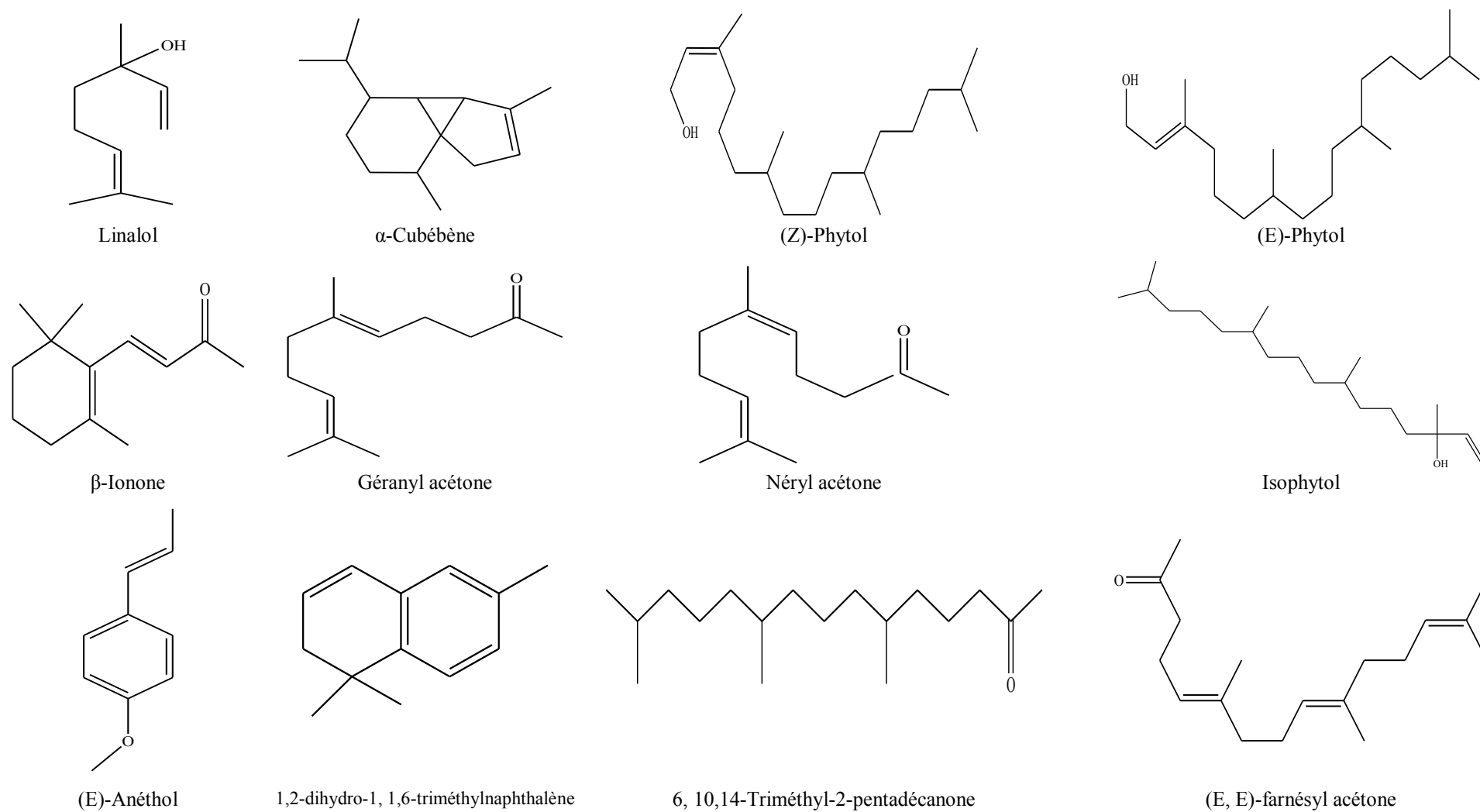


Figure 43. Structure chimique de quelques constituants détectés dans les huiles essentielles de *Cardaria draba* (L.) Desv.

La composition chimique des constituants volatils de la plante *C. draba* L. récoltée de la région d'Isfahan -Iran- a été rapportée. Les parties volatiles extraites de la partie aérienne fleurie, des fruits et des racines de l'espèce *C. draba* L. ont été analysées par CPG et CPG/SM. Les composés majoritaires de la partie aérienne fleurie sont: 3-butényl isothiocyanate (80.5%) et 4-méthylsulfinylbutyl isothiocyanate (5.6%). Les fruits sont constitués, principalement, de 4-méthylsulfinylbutyl isothiocyanate (72.1%), héptadécane (7.0%), hexadécane (6.8%) et octadécane (5.8%). Alors que les racines sont caractérisées par leur richesse en 4-méthylsulfinylbutyl isothiocyanate (30.0%), acide hexadécanoïque (24.1%), isobutyl isothiocyanate (14.3%), 3-butényl isothiocyanate (5.9%) et α -pinène (5.4%) (Afsharypuor S. et Jamali M., 2006).

Radonić A. et Coll (2011) ont analysé la fraction volatile de la partie aérienne de *C. draba* (L.) Desv. provenant de la Croatie. Cette fraction, obtenue par hydrodistillation, a été caractérisée par CPG-FID et CPG/SM. Elle est, principalement, constituée de 4-(méthylsulfonyl) butyl isothiocyanate (28.0%) et 5-(méthylsulfonyl) pentanenitrile (13.8%), obtenus de la dégradation de la glucoérucine. D'autres composés non azotés ou soufrés ont été également identifiés : acide hexadécanoïque (10.8%), phytol (10.2%), phtalate de dibutyle (4.5%).

En conclusion, deux nouveaux chémotypes ont été détectés durant cette étude : 6,10,14-Triméthyl-2-pentadécanone pour la partie aérienne et (E)-Phytol pour les feuilles de l'espèce algérienne *C. draba* (L.) Desv. Cette différence de la composition chimique, en comparant avec celle de la bibliographie, est attribuée aux plusieurs facteurs tels que les facteurs génétiques, physiologiques, analytiques, pédologiques et climatiques.

En comparant le profil chimique des huiles essentielles isolées de la plante *C. draba* (L.) avec celles issues de différentes origines géographiques du monde, nous observons que certains composés ont été caractérisés comme constituants majoritaires : 4-(méthylsulfonyl) butyl isothiocyanate, 3-butényl isothiocyanate, 4-méthylsulfinylbutyl isothiocyanate, 6,10,14-Triméthyl-2-pentadécanone et (E)-Phytol.

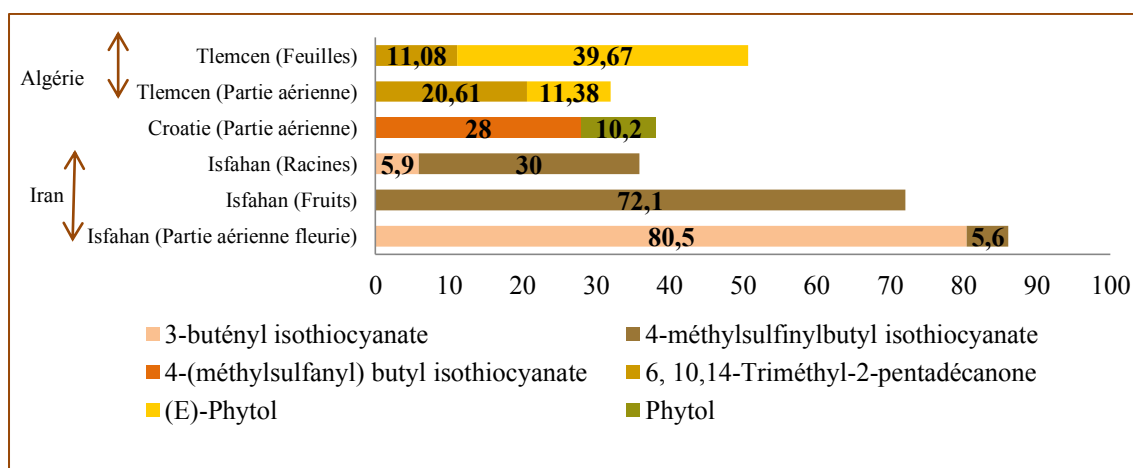


Figure 44. Pourcentage des chémotypes des huiles essentielles de la plante étudiée

2. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes des extraits de la plante *Cardaria draba* (L.) Desv.

D'autres extractions, par Soxhlet, ont été réalisées, par trois solvants de polarité croissante sur les feuilles et les tiges de la plante *C. draba* (L.) Desv. les données opératoires utilisées sont regroupées dans le tableau 15.

Tableau 15. Données opératoires des extractions effectuées sur les feuilles et les tiges de la plante *C. draba* (L.) Desv.

Partie utilisée	Masse	Solvant utilisé	Aspect de l'extrait	Couleur de l'extrait	Masse de l'extrait	Rendement
Feuilles	20.00 g	Dichlorométhane	Visqueux	Vert foncé	0.670 g	3.35 %
Feuilles	20.00 g	Ethanol absolu	Huileux	Marron	2.470 g	12.35 %
Feuilles	20.00 g	Eau distillée	Visqueux	Marron	5.530 g	27.65 %
Tiges	20.00 g	Dichlorométhane	Visqueux	Vert foncé	0.360 g	1.80 %
Tiges	20.00 g	Ethanol absolu	Huileux	Marron	1.300 g	6.50 %
Tiges	20.00 g	Eau distillée	Huileux	Marron	4.500 g	22.50 %

A partir des résultats cités dans le tableau ci-dessus, les rendements les plus élevés ont été obtenus avec les extraits aqueux des feuilles et des tiges de la plante *C. draba* (L.) Desv. (27.65% et 22.50%, respectivement). Par contre, les rendements des extraits éthanoliques sont plus faibles que ceux des extraits aqueux (12.35% pour les feuilles et 6.50% pour les tiges). Les extraits dichlorométhaniques des feuilles et des tiges de cette espèce donnent des rendements encore plus faibles (3.35% et 1.80%, respectivement).

Le rendement des extractions chimiques peut dépendre du type de solvants (différence de la polarité), le temps et la température des extractions, la ration échantillon/ solvant, la composition chimique et les caractéristiques physiques des extraits (Dai J. et Mumper R.J., 2010).

La teneur en polyphénols et flavonoïdes a été évaluée, respectivement, par les méthodes de Folin –Ciocalteu (F-C) et de chlorure d’aluminium. L’acide gallique et la quercétine ont été utilisés comme des références. Deux courbes d’étalonnage ont été tracées pour chaque dosage, en faisant solubiliser les extraits dans deux solvants différents : les extraits dichlorométhaniques et les extraits éthanoliques dans le méthanol, alors que les extraits aqueux sont solubilisés dans l’eau distillée (même courbes que ceux de la plante *Artemisia arborescens* L.) (Figure. 31, Figure. 32).

Les taux de composés phénoliques et de flavonoïdes de différents extraits sont cités dans le tableau 16. La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de la plante est exprimée en milligrammes équivalents en acide gallique par gramme de l’extrait sec. La quantification des flavonoïdes est exprimée en milligrammes équivalents en quercétine par gramme de l’extrait sec.

Tableau 16. Taux de composés phénoliques et des flavonoïdes des extraits de la plante *C.draba* (L.) Desv.

mg d'éq/g d'extrait	Ex. DCM Feuilles	Ex. Eth Feuilles	Ex. Aq Feuilles	Ex. DCM Tiges	Ex. Eth Tiges	Ex. Aq Tiges
Polyphénols ^a	19.6229 ± 0.3480	57.7855 ± 0.1661	41.8234 ± 0.1823	12.2272 ± 0.1230	30.4099 ± 0.0000	19.3095 ± 0.0606
Flavonoïdes ^a	393.5877 ± 0.1445	141.2665 ± 0.5578	62.5045 ± 0.1896	161.1455 ± 0.7154	99.3265 ± 0.2176	50.5761 ± 0.1925

^a Les résultats représentent des moyennes ± erreur standard de la moyenne (n=3).

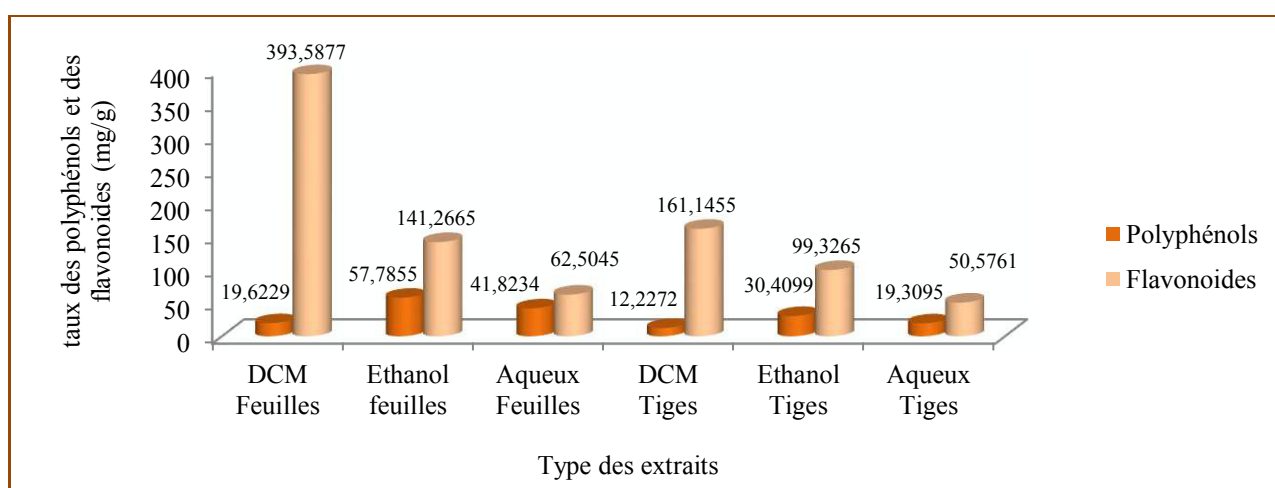


Figure 45. Quantité de composés phénoliques et de flavonoïdes des extraits de la plante *C. draba* (L.) Desv.

Au vu de résultats obtenus, nous remarquons que le contenu en composés phénoliques varie de 19.6229 à 57.7855 mg équivalents acide gallique/g pour les feuilles et de 12.2272 à 30.4099 mg équivalents acide gallique/g pour les tiges. Les extraits éthanoliques représentent les fractions phénoliques les mieux représentées avec 57.7855 mg/g pour les feuilles et 30.4099 mg/g pour les tiges, suivi par des extraits aqueux (41.8234 mg/g pour les feuilles et 19.3095 mg/g pour les tiges). Les extraits dichlorométhaniques ne contiennent que 19.6229 mg/g d'extrait pour les feuilles et 12.2272 mg/g d'extrait pour les tiges.

L'estimation quantitative des flavonoïdes révèle que les extraits dichlorométhaniques des feuilles et des tiges de la plante *C. draba* (L.) Desv. sont les extraits les plus riches en flavonoïdes avec des teneurs, respectivement, de 393.5877 et 161.1455 mg/g d'extrait. Viennent, ensuite, les extraits éthanoliques (141.2665 mg/g pour les feuilles et 99.3265 mg/g pour les tiges). Alors que les extraits aqueux montrent les teneurs les plus faibles en flavonoïdes avec 62.5045 mg/g d'extrait pour les feuilles et 50.5761 mg/g d'extrait pour les tiges.

En conclusion, l'extraction des composés phénoliques des feuilles et des tiges de la plante *C. draba* (L.) Desv. se fait, préféremment, avec le solvant éthanol qui a donné des teneurs les plus élevés en ces composés. Tandis que le solvant dichlorométhane constitue le meilleur solvant pour l'isolation des flavonoïdes des feuilles et des tiges de cette espèce étudiée. Plusieurs facteurs sont responsables de la différence de taux de composés phénoliques et de flavonoïdes tels que : la polarité des solvants utilisés, la partie de la plante étudiée et la méthode d'extraction choisie.

3. Activité anti-radicalaire des extraits de l'espèce *C. draba* (L.) Desv.

A l'exception des extraits dichlorométhaniques, l'évaluation de l'activité anti-radicalaire de différents extraits des feuilles et des tiges de l'espèce *C. draba* (L.) Desv. a été déterminée, spectroscopiquement, par un test de DPPH en évaluant le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction du temps. Les figures 46 et 47 montrent l'évolution de pourcentage de réduction de DPPH, respectivement, par l'huile essentielle de la partie aérienne et les extraits en fonction du temps.

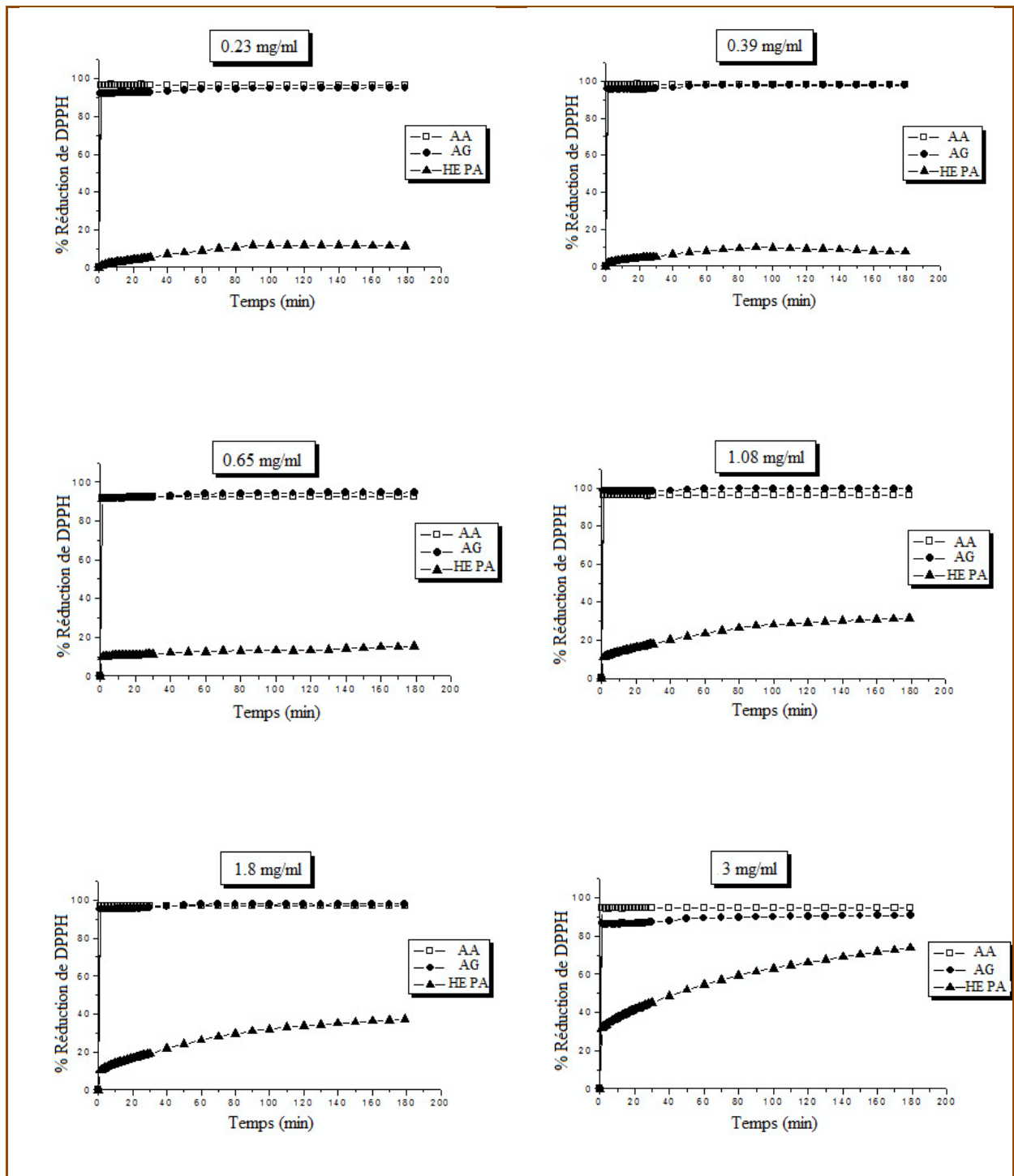


Figure 46. Pourcentage de réduction de DPPH en fonction du temps. AA : Acide ascorbique, AG : Acide gallique, HE PA : Huile essentielle de la partie aérienne de la plante *C. draba* (L.) Desv

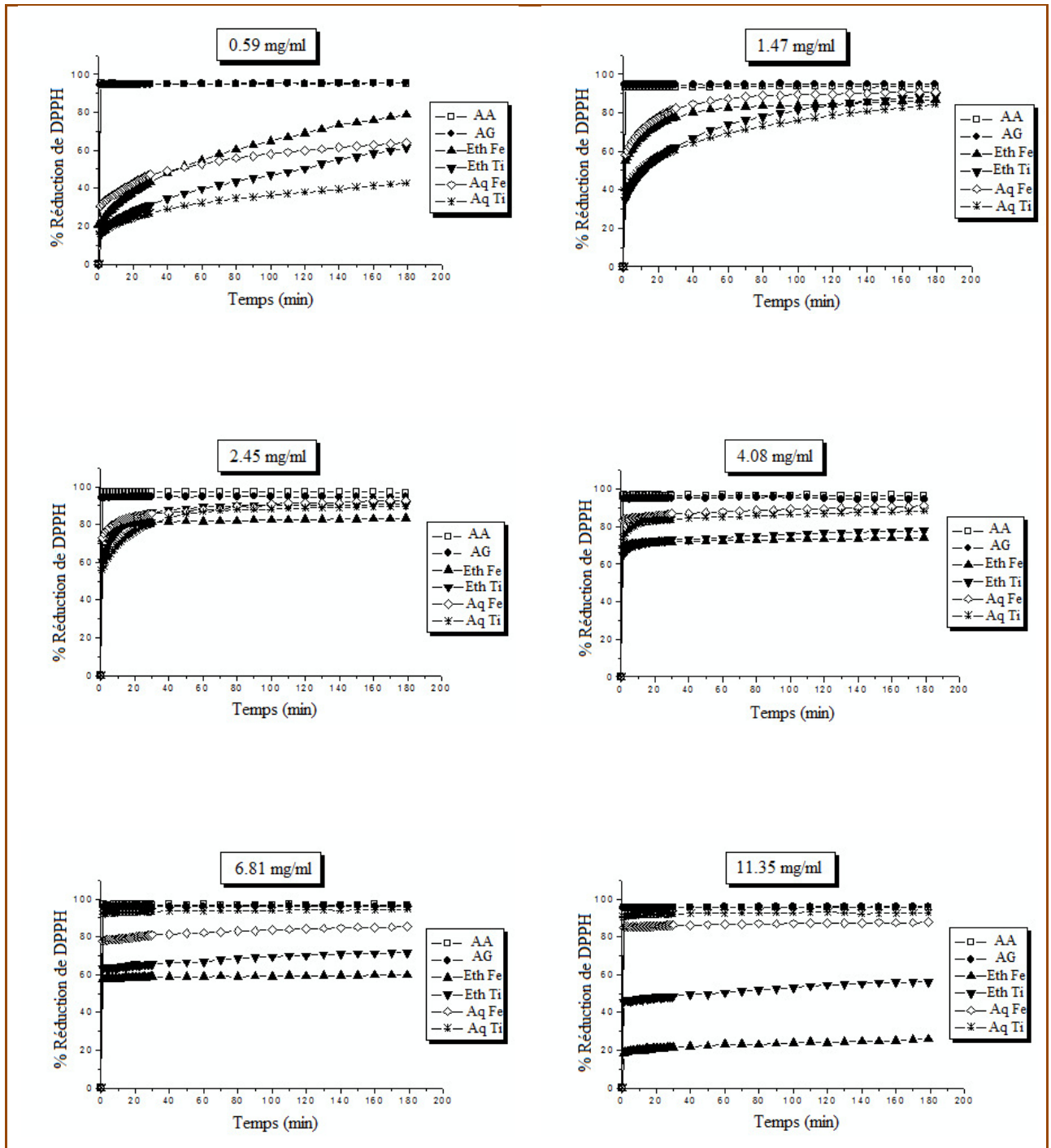


Figure 47. Pourcentage de réduction de DPPH en fonction du temps. AA : Acide ascorbique, AG : Acide gallique, Eth Fe : Extrait éthanolique des feuilles, Eth Ti : Extrait éthanolique des tiges, Aq Fe : Extrait aqueux des feuilles, Aq Ti : Extrait aqueux des tiges.

Pour l'huile essentielle de la plante, le pouvoir anti-radicalaire dépend de la concentration testée. A la concentration de 3 mg/ml, après 180 min d'incubation à la température ambiante, le pourcentage de réduction de DPPH était de 73.89 %. Mais à une dose plus basse (0.23 mg/ml), le pourcentage était seulement de 11.21%. Comparant aux antioxydants synthétiques après 180 min d'incubation : l'acide ascorbique (98.15% à 0.39 mg/ml) et l'acide gallique (99.62% à 1.08 mg/ml), nous pouvons dire que l'huile essentielle de la partie aérienne montre un effet antioxydant remarquable (73.89% à 3 mg/ml). Cette capacité peut être due à la richesse de l'huile essentielle en composés carbonylés.

Dans le cas des extraits de la plante *C. draba* (L.) Desv., différentes concentrations ont été utilisées variant de 0.59 à 11.35 mg/ml. Pour les feuilles de la plante, après une incubation de 3h à la température ambiante, le meilleur pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait éthanolique était de 86.85% à la dose de 1.47 mg/ml, et celui de l'extrait aqueux, il était de 92.48 % à 2.45 mg/ml. Pour les tiges, l'extrait éthanolique montre, à la concentration de 2.45 mg/ml, un pourcentage d'inhibition important (90.61% après 3h d'incubation). Le pourcentage de piégeage de DPPH pour l'extrait aqueux est plus élevé (94.34% à 6.81 mg/ml).

La figure 48 montre les valeurs de CI_{50} , respectivement, de l'huile essentielle et des extraits de la plante *C.draba* (L.) Desv. L'activité de piégeage de radical a été mesurée après 60 min de réaction.

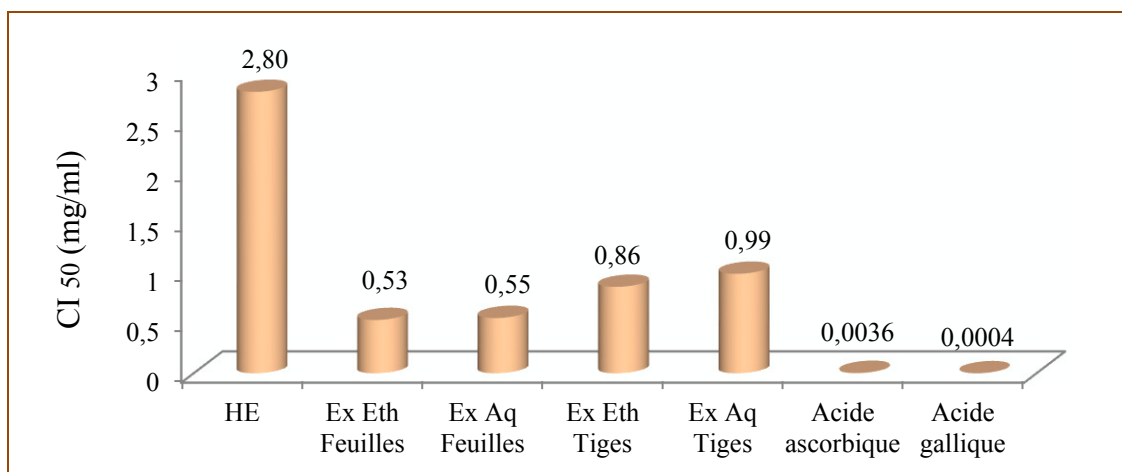


Figure 48. Valeurs de CI_{50} de l'huile essentielle et des extraits de la plante *C.draba* (L.) Desv. et des antioxydants de référence

A partir de la figure 37, nous remarquons que les extraits des feuilles de l'espèce *C.draba* (L.) Desv. sont plus actifs que ceux des tiges. Ce résultat permet de classer les extraits selon leurs valeurs de CI_{50} par ordre croissant : Acide gallique > Acide ascorbique > Ex Eth Feuilles > Ex Aq Feuilles > Ex Eth Tiges > Ex Aq Tiges. L'huile essentielle de la partie aérienne de cette espèce présente une

valeur de CI_{50} ($CI_{50}=2.80$ mg/ml), significativement, supérieure que celle des antioxydants naturels (Acide gallique : $CI_{50}=0.0004$ mg/ml, Acide ascorbique : $CI_{50}=0.0036$ mg/ml).

Pour une caractérisation plus précise de l'activité anti-radicalaire, les paramètres de $T_{CI_{50}}$ et EAR sont introduits. Le tableau 17 résume les paramètres de la cinétique de réduction de DPPH.

Tableau 17. Paramètres caractéristiques de la cinétique de réduction du radical DPPH

Extraits	CI_{50} (mgAO/ml)	CI_{50} (mgAO/gDPPH)	$T_{CI_{50}}$ (min)	EAR ($\times 10^{-3}$)	Classification
HE	2.80	51 851.85	177.965	0.0108×10^{-2}	Faible
Ex Eth Feuilles	0.53	9 814.81	164.603	0.0619×10^{-2}	Faible
Ex Aq Feuilles	0.55	10 185.18	167.299	0.0587×10^{-2}	Faible
Ex Eth Tiges	0.86	15 925.92	178.668	0.0351×10^{-2}	Faible
Ex Aq Tiges	0.99	18 333.33	175.972	0.0310×10^{-2}	Faible
Acide ascorbique	0.0036	66.67	0.020	749.96	Très élevée
Acide gallique	0.0004	7.41	1.156	116.74	Très élevée

La lecture des résultats mentionnés dans le tableau 16 montre que, contrairement aux antioxydants naturels, la cinétique de réactions entre les différents extraits et l'huile essentielle de la plante *C.draba* (L.) Desv. avec le radical libre DPPH est très lente ($T_{CI_{50}}>30$ min). Les valeurs de l'efficacité anti-radicalaire permettent de classer les différents extraits selon l'ordre décroissant suivant : Acide ascorbique > Acide gallique > Ex Eth Feuilles > Ex Aq Feuilles > Ex Eth Tiges > Ex Aq Tiges > HE.

Conclusion Générale

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre des travaux de recherche de l'équipe des Huiles Essentielles du Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO) dont l'un des objectifs est de découvrir de nouvelles molécules biologiquement actives. Dans le but de valoriser l'efficacité des plantes de l'ouest d'Algérie, deux espèces, appartenant aux familles différentes, ont été sélectionnées dans cette étude: *Artemisia arborescens* L. (famille des astéracées) et *Cardaria draba* (L.) Desv (famille des brassicacées).

L'investigation chimique des huiles essentielles de différentes parties de l'espèce *Artemisia arborescens* L., récoltée de différentes stations de la Wilaya de Tlemcen, révèle leur richesse en monoterpènes oxygénés (33.87% - 78.40%). Deux composés majoritaires ont été détectés : Camphre et Chamazulène. En comparant avec l'étude réalisée sur la même plante à Bejaia (Est d'Algérie), nous pouvons conclure que le camphre, seul constituant majoritaire, est considéré comme un nouveau chémotype de l'espèce algérienne *Artemisia arborescens* L.

La caractérisation qualitative et quantitative de la partie volatile extraite de la partie aérienne et des feuilles de la plante *Cardaria draba* (L.) Desv. nous a permis d'identifier deux nouveaux chémotypes : 6, 10,14-Triméthyl-2-pentadécane (la partie aérienne) et (E)- Phytol (les feuilles). Ces deux constituants ont été détectés pour la première fois à travers le monde d'où l'originalité de cette étude.

Nous avons, également, réalisé des extractions solide – liquide à l'aide d'un appareil de type de Soxhlet effectuées sur les différentes parties des deux plantes (Feuilles et Tiges) en utilisant trois solvants de polarité croissante (Dichlorométhane, Ethanol et Eau). Les dosages des polyphénols et des flavonoïdes évalués, respectivement, par la méthode de Folin- Ciocalteu (F-C) et la méthode de chlorure d'aluminium montrent l'abondance de tous les extraits en composés phénoliques.

Une évaluation des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits des plantes sélectionnées a été étudiée. L'activité antibactérienne de la plante *Artemisia arborescens* L. évaluée, *in vitro*, contre onze espèces bactériennes montre l'efficacité des huiles essentielles vis-à-vis des souches de *Enterococcus faecalis* et *Salmonella typhimurium*. Toutes les huiles essentielles ne présentent aucun effet inhibiteur contre les souches : *Escherichia coli* et *L. monocytogenes*.

De plus, les huiles essentielles et les extraits des deux plantes choisies ont été testés pour leur pouvoir de piégeage des radicaux libres via la méthode de DPPH. Dans cette partie, deux axes ont été mis en place : la détermination de la concentration inhibitrice (CI₅₀) et l'étude cinétique de la réaction

entre un antioxydant et le radical de DPPH afin de calculer le temps correspondant à CI_{50} ($T_{CI_{50}}$) et l'efficacité anti-radicalaire EAR. Les huiles essentielles, ainsi que les extraits sont doués d'une activité anti-radicalaire acceptable.

Enfin, l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la partie aérienne de l'espèce *Artemisia arborescens* L. a été testée sur les rats Wistar rendus diabétiques par l'injection de la streptozotocine. Aucune toxicité de cet extrait n'a été enregistrée sur les rats. Il diminue, significativement, le taux de la glycémie d'où la confirmation de l'utilisation traditionnelle, par la population algérienne, de cette plante contre le diabète.

En définitif, ce travail s'il fixe des résultats certains, ouvre des perspectives et des pistes de recherche, tant au niveau de la connaissance scientifique, qu'à celui d'une possibilité de valorisation de la matière végétale de notre région. D'autres études complémentaires pourront être envisagées :

- L'étude de différents facteurs influant sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles extraites des plantes sélectionnées au cours de cette étude tels que : le stade végétatif, la durée de conservation de la matière végétale...
- La détermination structurale de tous les extraits obtenus par extraction solide – liquide des deux plantes.
- L'évaluation de l'activité anti-radicalaire par d'autres méthodes afin de bien comparer les résultats.
- La recherche du (des) composé(s) responsable(s) de cette activité antidiabétique remarquable de l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Artemisia arborescens* L.

Références bibliographiques

A

Abderrahim A., Belhamel K., Chalchat J.C., Figuérédo G., Chemical composition of the essential oil from *Artemisia arborescens* L. growing wild in Algeria, *Records of Natural Products*, **2010**, 4(1):87-90.

Adams R.P., Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadruple Mass Spectroscopy, Allured Publishing. Carol Stream, IL, USA, **2001**.

Afsharypuor S., Jamali M., Volatile constituents of the flowering aerial parts, fruits and roots of *Cardaria draba* L., *Journal of Essential oil Research*, **2006**, 18(6):674-675.

Ahameethunisa A.R., Hopper W., Antibacterial activity of *Artemisia nilagirica* leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **2010**, 10:6.

Ahmad I., Aqil F., Owais M., Modern Phytomedicine, Ed. Wiley – VCH, **2006**, p. 60, 282.

Al – Momani W., Abu – Basha E., Janakat S., Nicholas R.A.J., Ayling R.D., In vitro antimycoplasmal activity of six Jordanian medicinal plants against three Mycoplasma species, *Trop Anim Health Prod*, **2007**, 39:515-519.

Andersen Q.M., Markham K.R., Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications, Ed. Taylor & Francis Group, **2006**, p. 149 – 151.

Ankur R., Shahjad A., Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects, *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, **2012**, 3(2): 819-823.

Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik E.S., Bektaşoğlu B., Berker I.K., Özyurt D., comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay, *Molecules*, **2007**, 12 : 1496 – 1547.

Apak R., Gorinstein S., Böhm V., Schaich K.M., Özyürek M., Güçlü K., Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem*, **2013**, 85(5): 957–998.

Armstrong D., Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols, Ed. Humana Press, **2002**, p. 3.

Arômes library of Laboratory of Chemistry of Natural Products, University of Corse, Corte, France, UMR CNRS, p 6134, **1987- 2011**.

Atmani D., Chaher N., Atmani D., Berboucha M., Debbache N., Boudaoud H., Flavonoids in Human Health: From Structure to Biological Activity, *Current Nutrition & Food Science*, **2009**, 5: 225 – 237.

B

Baba Aissa F., Encyclopédie des plantes utiles, Librairie moderne – Rouïba, **1999**, p. 20-21.

Bagamboula C.F., Uyttendaele M., Candan F., Daferera D., Unli G.V., Polissiou M., Sokmen A., Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol Extracts, *Food Chem*, **2004**, 84:519–552.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., Biological effects of essential oils – A review, *Food and Chemical Toxicology*, **2008**, 46(2): 446 – 475.

Baykan Erel S., Reznicek G., Şenol S.G., Karabay Yavaşoğlu U.N., Konyalıoğlu S., Zeybek A.U., Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia, *Turk J Biol*, **2012**, 36: 75-84.

Bendimerad N., Taleb S.A., Benabadji A.B., Fernandez X., Valette L., Lizzani- Cuvelier L., Composition and antibacterial activity of *Pseudocytisus intergrifolius* (Salisb). essential oil from Algeria, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2005**, 53:2947–2952.

Birt F.D., Hendrich S., Wang W., Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids, *Pharmacology & Therapeutics*, **2001**, 90: 157 – 177.

Bnouham M., Mekhfi H., Legssyer A., Ziyat A., Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco, *Int J Diabetes & Metabolism*, **2002**, 10:33-50.

Bona M., Distribution of *Lepidium* taxa in turkey, *Bocconeae*, **2012**, 24:221-225.

Bondet V., Brand-Williams W., Berset C., Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, **1997**, 30:609–615.

Braca A., Sortino C., Politi M., Morelli I., Mendez J., Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*, *J. Ethnopharmacol*, **2002**, 79(3):379–381.

Buchanan B., Gruissem W., Jones R., *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Eds. American Society of Plant Physiologists, **2000**, p. 1253 – 1258, 1304 – 1308.

Buer S.C., Imin N., Djordjevic A.M., Flavonoids: New Roles for Old Molecules, *Journal of Integrative Plant Biology*, **2010**, 52(1): 98 – 111.

C

Campos A.M., Duran N., Lopez-Alarcón C., Lissi E., Kinetic and stoichiometric evaluation of free radicals scavengers activities based on diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) consumption, *J. Chil. Chem. Soc.*, **2012**, 57(4):1381-1384.

Can Başer K.H., Buchbauer G., *Handbook of Essential Oils - Science, Technology, and Applications*, Ed. CRC Press Taylor & Francis Group, **2010**, p. 3 – 6, 156 – 159, 236.

Cha J.D., Chemical composition and antibacterial activity against oral bacteria by essential oil of *Artemisia iwayomogi*, *Journal of Bacteriology and Virology*, **2007**, 37(3):129–136.

Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., Chern J.C., Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *Journal of Food and Drug Analysis*, **2002**, 10(3): 178-182.

Chatzigeorgiou A., Halapas A., Kalafatakis K., Kamper E., The Use of Animal Models in the Study of Diabetes Mellitus, *in vivo*, **2009**, 23: 245-258.

Cheng A.X., Lou Y.G., Mao Y.B., Lu S., Wang L.J., Chen X.Y., Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions, *Journal of Integrative Plant Biology*, **2007**, 49(2): 179 – 186.

Colegate M.S., Molyneux J.R., *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation and Structural Determination*, Ed. Taylor & Francis Group, **2008**, p. 306 – 307.

Cos P., Ying L., Calomme M., Hu P.J., Cimanga K., Poel B.V., Pieters L., Vlietinck J.A., Berghe V.D., Structure-Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers, *J. Nat. Prod.*, **1998**, 61: 71 -76.

Cseke J.L., Kirakosyan A., Kaufman B.P., Warber L.S., Duke A.J., Brielmann L.H., *Natural Products from Plants*, Ed. Taylor & Francis Group, **2006**, p. 22.

Cushnie T.P.T., Lamb J.A., Antimicrobial activity of flavonoids, *International Journal of Antimicrobial Agents*, **2005**, 26: 343 – 256.

D

Daayf F., Lattanzio V., Recent Advances in Polyphenol Research, Ed. Blackwell Publishing, **2008**, p. 2-4.

Dabiri M., Sefidkon F., Chemical composition of the essential oil of *Nepeta racemosa* Lam. from Iran, *Flavour and Fragrance Journal*, **2003**, 18:157–158.

Dai J., Mumper R.J., Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties, *Molecules*, **2010**, 15: 7313-7352.

D'archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R., Polyphenols, dietary sources and bioavailability, *Ann Ist Super Sanità*, **2007**, 43 (4) : 348 – 361.

Dib M.A., Djabou N., Desjobert J.M., Allali H., Tabti B., Muselli A., Costa J., Characterization of volatile compounds of *Daucus crinitus* Desf. Headspace solid phase micro-extraction as alternative technique to hydrodistillation, *Chemistry Central Journal*, **2010**, 4(16):1–15.

Dubey V.S., Bhalia R., Luthra R., An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants, *J. Biosci.*, **2003**, 28(5): 637–646.

E

Eddouks M., Chattopadhyay D., Zeggwagh N.A., Animal Models as Tools to Investigate Antidiabetic and Anti-Inflammatory Plants, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2012**, Volume 2012, **2012** : 1-14.

Eisenreich W., Rohdich F., Bacher A., Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids, *TRENDS in Plant Science*, **2001**, 6(2): 78 – 84.

El Beyrouthy M., Arnauld-Apostolides N., Labaki M., Cazier F., Najm S., AbouKaïs A., Chemical composition of the essential oil of the *Artemisia arborescens* L. growing wild in Lebanon, *Lebanese Science Journal*, **2011**, 12(1) : 71-78.

Encyclopaedia Universalis, Vol. 4, Editeur à Paris, **1968**, p. 795-797.

Encyclopaedia Universalis, Vol. 5, Editeur à Paris, **1968**, p. 176-178.

F

Francesco L., Wissing A.S., Müller R.H., Fadda A.M., *Artemisia arborescens* L. essential oil-loaded solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: preparation and characterization, *AAPS PharmSciTech*, **2006**, 2:E₁-E₉, 7:1.

Fernández P.S., Wasowski C., Loscalzo M.L., Granger E.R., Johnston A.R.G., Paladini A.C., Marder M., Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides, *European Journal of Pharmacology*, **2006**, 539: 168 – 176.

Figueredo G., Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne, Thèse de doctorat en Chimie organique, Université Blaise Pascal, **2007**.

Foti M.C., Daquino C., Mackie I.D., DiLabio G.A., Ingold K.U., Reaction of Phenols with the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical. Kinetics and DFT Calculations Applied To Determine ArO-H Bond Dissociation Enthalpies and Reaction Mechanism, *J. Org. Chem*, **2008**, 73(23):9270-9282.

Fröde T.S., Medeiros Y.S., Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity, *Journal of Ethnopharmacology*, **2008**, 115:173–183.

G

González-Gallego J., Sánchez-campos S., Tuñón J.M., Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids, *Nutr Hosp*, **2007**, 22(3): 287 – 93.

Gross M., Flavonoids and Cardiovascular Disease, *Pharmaceutical Biology*, **2004**, 42: 21 – 35.

Grotewold E., The Science of Flavonoids, Ed. Springer, **2006**, p. 1 – 4.

H

Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D., Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants, Ed. ICS-UNIDO, **2008**, p. 23-24, 40-41.

Harkati B., Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae : *Scorzonera Undulata*, Thèse de doctorat en chimie organique, Université Mentouri - Constantine, **2011**.

Heim E.K., Tagliaferro R.A., Bobilya J.D., Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity Relationships, *J. Nutr. Biochem*, **2002**, 13: 572 – 584.

Hollman C.H.P., Absorption, and Metabolism of Flavonoids, *Pharmaceutical Biology*, **2004**, 42: 74 – 83.

I

Iwashina T., The Structure and Distribution of the Flavonoids in plants, *J. Plant Res*, **2000**, 113: 287 – 299.

J

Jarald E., Balakrishnan Joshi S., Chandra Jain D., Diabetes and Herbal Medicines, *IRANIAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS*, **2008**, 7:97-106.

Jedinák A., Faragó J., Pšenáková I., Maliar T., Approaches to flavonoid production in plant tissue cultures, *Biologia, Bratislava*, **2004**, 59 (6) : 697 – 710.

Judd S.W., Campbell S.C., Kellogg E.A., Stevens P., Botanique systématique : une perspective phylogénétique, Ed. Paris; Bruxelles: De Boeck université, cop, **2002**, p. 326.

K

Kanadaswami C., Lee L., Lee P., Hwang J., Ke F., Huang Y., Lee M. The Antitumor Activities of Flavonoids, *in vivo*, **2005**, 19: 895 – 910.

Karadag A., Ozcelik B., Saner S., Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities, *Food Anal. Methods*, **2009**, 2:41–60.

Kaufman R.S., Kaufman W., Invasive plants: a guide to identification, impacts and common North American species, Ed. Mechanicsburg, PA : Stackpole Books, cop, **2007**, p. 286-287.

Keller R.B., Flavonoids: Biosynthesis, Biological Effects and Dietary Sources, Ed. Nova Science Publishers, **2009**, p. 55.

Khamsan S., Liawruangrath B., Liawruangrath S., Teerawutkulrag A., Pyne S.G., Garson M.J., Antimalarial, anticancer, antimicrobial activities and chemical constituents of essential oil from the aerial parts of *Cyperus kyllingia* Endl. *Records of Natural Products*, **2011**, 5(4):324–327.

Kirby J., Keasling J.D., Biosynthesis of Plant Isoprenoids: Perspectives for Microbial Engineering, *Annu. Rev. Plant Biol*, **2009**, 60: 335 – 55.

König W.A, Hochmuth D.H, Joulain D., Terpenoids and related constituents of essential oils. Library of Mass Finder 2.1, University of Hamburg, Institute of Organic Chemistry, Hamburg, Germany, **2001**.

L

Lamharrar A., Idlimam A., Ethmane Kane C.S., Jamali A., Abdenouri N., Kouhila M., Sorption isotherms and drying characteristics of *Artemisia arborescens* leaves, *Journal of agronomy*, **2007**, 6(4):488-498.

Lemoine C., Les fleurs méditerranéennes, Ed. Paris Gisserot, **2005**, p.14.

Lenzen S., The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes, *Diabetologia*, **2008**, 51:216–226.

Liao Z.H., Chen M., Gong Y.F., Miao Z.Q., Sun X.F., Tang K.X., Isoprenoid Biosynthesis in Plants: Pathways, Genes, Regulation and Metabolic Engineering, *Journal of Biological Sciences*, **2006**, 6(1): 209 – 219.

Lo. Presti M., Crupi M,L., d'A. Zellner B., Dugo G., Mondello L., Dugo P. & Ragusa S., Characterization of *Artemisia arborescens* L. (Asteraceae) leaf-derived essential oil from Southern Italy, *Journal of Essential Oil Research*, **2007**, 19: 218-224.

M

MacDonald-Wicks L.K., Wood L.G., Garg M.L., Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: A review, *J Sci Food Agric*, **2006**, 86:2046–2056.

Manthey J.A., Biological Properties of Flavonoids Pertaining to Inflammation, *Microcirculation*, **2000**, 7: S29 – S34.

Marinova G., Batchvarov V., Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, **2011**, 17 (1):11-24.

Marongiu B., Piras A., Porcedda S., Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of *Artemisia arborescens* L. and *Helichrysum splendidum* (Thunb.) Less., *Natural Product Research*, **2006**, 20(5): 421–428.

Martin V.J.J., Pitera D.J., Withers S.T., Newman J.D., Keasling J.D., Engineering a mevalonate pathway in *Escherichia coli* for production of terpenoids, *Nature Biotechnology*, **2003**, 21(7): 796 – 802.

Martínez-Nieto M.I., Encarna Merlo M., Mota J.F., Salmerón-Sánchez E., Segarra-Moragues J.G., Microsatellite Loci in the Gypsophyte *Lepidium subulatum* (Brassicaceae), and transferability to other *Lepidieae*, *International Journal of Molecular Sciences*, **2012**, 13: 11861-11869.

Middleton E., JR., Kandaswami C., Theoharides C.T., The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer, *Pharmacol Rev*, **2000**, 52: 673 – 751.

Mighri H., Hadjlaoui H., Akrouf A., Najjaa H., Neffati M., Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone, *Comptes Rendus Chimie*, **2010**, 13: 380–386.

Militello M., Carrubba A., Amparo Blázquez M., *Artemisia arborescens* L.: essential oil composition and effects of plant growth stage in some genotypes from Sicily, *The Journal of Essential Oil Research*, **2012**, 24(3): 229–235.

Militello M., Settanni L., Aloe A., Mammina C., Moschetti G., Giammanco G.M., Amparo Blázquez M., Carrubba A., Chemical composition and antibacterial potential of *Artemisia arborescens* L. essential oil, *Curr Microbiol*, **2011**, 62:1274–1281.

Mirjalili M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad Ebrahimi S., Sonboli A., Phenological variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit from Iran, *J. Essent. Oil Res*, **2007**, 19: 326-329.

Molyneux P., The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol*, **2004**, 26(2) :211-219.

Mordes J.P., Bortell R., Blankenhorn E.P., Rossini A.A., Greiner D.L., Rat Models of Type 1 Diabetes: Genetics, Environment, and Autoimmunity, *ILAR Journal*, **2004**, 45(3): 278-291.

Moro Buronzo A., Grand Guide des Huiles Essentielles, Ed. Hachette Pratique, **2008**, p. 23 – 25.

Motohashi N., Sakagami H., Anthocyanins as Functional Food Colors, *Top Heterocycl Chem*, **2009**, 16: 1 – 40.

Mummenhoff K., Brüggemann H., Bowman J.L., Chloroplast DNA phylogeny and biogeography of *Lepidium* (Brassicaceae), *American Journal of Botany*, **2001**, 88(11):2051-2063.

Munro D.B., Small E., Les legumes du Canada, Ed. Les presses scientifiques du CNRC. Ottawa, **1998**, p.254.

N

Nagegowda D.A., Plant volatile terpenoid metabolism: Biosynthetic genes, transcriptional regulation and subcellular compartmentation, *FEBS Letters*, **2010**, 584: 2965 – 2973.

Nandave M., Ojha S.K., Arya D.S., Protective Role of Flavonoids in Cardiovascular Diseases, *Natural Product Radiance*, **2005**, 4(3): 166 – 176.

Nauciel C., Vildé J.L., Bactériologie médicale, Ed. MASSON, Paris, **2005**, p. 5-10.

Nijveldt J.R., Nood E., Hoorn D., Boelens P.G., Norren K., Leeuwen P., Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am J Clin Nutr*, **2001**, 74: 418 – 25.

Nileeka Balasuriya B.W., Vasantha Rupasinghe H.P., Plant flavonoids as angiotensin converting enzyme inhibitors in regulation of hypertension, *Functional Foods in Health and Disease*, **2011**, 5: 172 – 188.

O

Oteiza I.P., Erlejman G.A., Verstraeten V.S., Keen L.C., Fraga C.G., Flavonoid-membrane interactions: A protective role of flavonoids at the membrane surface?, *Clinical & Developmental Immunology*, **2005**, 12 (1): 19 – 25.

P

Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., Antioxidant Food Supplements in Human Health, Ed. Academic Press, **1999**, p. 260 – 264.

Pappas R., Sheppard-Hanger S., *Artemisia arborescens* - essential oil of the Pacific Northwest: a high-chamazulene, low-thujone essential oil with potential skin-care applications, *Aromatherapy J*, **2000**, 10:30-33.

Paris D., Mathura V., Ait-Ghezala G., Beaulieu-Abdelahad D., Patel N., Bachmeier C., Mullan M., Flavonoids lower Alzheimer's A β production via an NF κ B dependent mechanism, *Bioinformation*, **2011**, 6(6): 229 -236.

Passamonti S., terdoslavich M., Franca R., Vanzo A., Tramer F., Braidot E., Petrusa E., Vianello A., Bioavailability of Flavonoids: A Review of Their Membrane Transport and the Function of Bilitranslocase in Animal and Plant Organisms, *Current Drug Metabolism*, **2009**, 10: 369 – 394.

Pękal A., Pyrzynska K., Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay, *Food Anal. Methods*, **2014**, 1-7.

Pereira M.D., Valentão P., Pereira A.J., Andrade B.P., Phenolics: From Chemistry to Biology, *Molecules*, **2009**, 14: 2202 – 2211.

Polese J.M., Encyclopédie visuelle des plantes sauvages, Ed. [Paris] : Artémis, **2007**, p.92.

Popovici C., Saykova I., Tylkowski B., Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de génie industriel*, **2009**, 4:25-39.

Prior R.L., Wu X., Schaich K., Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *J. Agric. Food Chem*, **2005**, 53:4290-4302.

Pourmorad F., Hosseinimehr S.J., Shahabimajd N., Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants, *African Journal of Biotechnology*, **2006**, 5(11): 1142-1145.

R

Radonić A., Blažević I., Mastelić J. Zekić M., Skočibušić M., Maravić A., Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Cardaria draba* (L.) Desv. Volatiles, *Chemistry & Biodiversity*, **2011**, 8:1170-1181.

Radwan H.M., El- Missiry M.M., Al – Said W.M., Ismail A.S., Abdel Shafeek K.A., Seif–El–Nasr M.M., Investigation of the glucosinolates of *Lepidium Sativum* growing in Egypt and their biological activity, *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, **2007**, 2(2):127-132.

Raj Narayana K., Sripal Reddy M., Chaluvadi M.R., Krishna D.R., Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential, *Indian Journal of Pharmacology*, **2001**, 33: 2 -16.

Ren W., Qiao Z., Wang H., Zhu L., Zhang L., Flavonoids: Promising Anticancer Agents, *Medicinal Research Reviews*, **2003**, 23(4): 519 – 534.

Roginsky V., Lissi E.A., Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, *Food Chemistry*, **2005**, 92:235–254.

Roland J.C., Roland F., Bouteau H.E., Bouteau F., Atlas Biologie végétale – Organisation des plantes à fleurs, Ed. DUNOD, **2008**, p.124.

Rollins R.C., The Cruciferae of continental North America: systematics of the mustard family from the Arctic to Panama, Ed. Stanford, Calif.: Stanford Univ. Press, **1993**, p.300.

Rouessac F., Rouessac A., Analyse Chimique - Méthodes et techniques instrumentales modernes, Ed. DUNOD, **2004**, p. 315.

S

Saddi M., Sanna A., Cottiglia F., Chisu L., Casu L., Bonsignore L., De Logu A., Antiherpevirus activity of *Artemisia arborescens* essential oil and inhibition of lateral diffusion in Vero cells, *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, **2007**, 6:10.

Salluca T.G., Penarrieta J.M., Alvarado J.A., Bergenstahl B., Determination of Total Phenolic Compounds Content and the Antioxidant Capacity of Andean Tubers and Roots, *Revista Boliviana De Química*, **2008**, 25(1):58-61.

Samatha T., Shyamsundarachary R., Srinivas P., Swamy N.R., Quantification of Total Phenolic and Total Flavonoid Contents in Extracts of *Oroxylum Indicum* L.Kurz, *Asian Journal of Pharmaceutical & Clinical Research*, **2012**, 5(4):177-179.

Sánchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F., A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols, *J Sci Food Agric*, **1998**, 76:270-276.

Sandhar K.H., Kumar B., Prasher S., Tiwari P., Salhan M., Sharma P., A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids, *INTERNATIONALE PHARMACEUTICA SCIENCIA*, **2011**, 1(1): 25 – 41.

Sarker D.S., Latif Z., Gray I.A., Natural Products Isolation, Ed. Humana Press, **2006**, p. 33-34, 251.

Singleton V. L., Rossi J. A., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *Am. J. Enol.Vitic*, **1965**, 16:144-158.

Srinivasan K., Ramarao P., Animal models in type 2 diabetes research: An overview, *Indian J Med Res*, **2007**, 125:451-472.

Stace C.A., New flora of the British Isles, Ed. Cambridge ; New York : Cambridge University Press, **2010**, p.405.

Stalikas C.D., Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids, *J. Sep. Sci*, **2007**, 30: 3268 – 3295.

Stefek M., Natural flavonoids as potential multifunctional agents in prevention of diabetic cataract, *Interdiscip. Toxicol*, **2011**, 4(2): 69 – 77.

Stern K.R., Jansky S., Bidlack J.E., Introductory plant biology, Ed. The McGraw–Hill Companies, **2003**, p.480.

T

Terao J., Kawai Y., Murota K., Vegetable flavonoids and cardiovascular disease, *Asia Pac J Clin Nutr*, **2008**, 17 (S1): 291 – 293.

Tirzitis G., Bartosz G., Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights, *Acta Biochimica Polonica*, **2010**, 57(1):139–142.

Tiwari S., Plants: A rich source of herbal medicine, *Journal of Natural Products*, **2008**, 1:27-35.

V

Velasco-Negueruela A., Pérez-Alonso M.J., Palà-Paül J., Inigo A., Lopez G., Leaf essential oils of *Juniperus navicularis Gandoger*, *Botanica Complutensis*, **2002**, 26:85–91.

Valgas C., Machado de Souza S., Smânia E.F.A., Smânia A., Screening methods to determine antibacterial activity of natural products, *Brazilian Journal of Microbiology*, **2007**, 38:369-380.

Volkov V.A., Dorofeeva N.A., Pakhomov P.M., Kinetic method for studying the antiradical activity of medicinal plant extracts, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, **2009**, 43(6):27 – 31.

W

Wattiez A.S., Dupuis A., Courteix C., Le rat STZ-diabétique : modèle adapté à l'étude de la neuropathie diabétique douloureuse ? *Douleur analg*, **2012**, 25:38-45.

Winkel-Shirley B., Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology, *Plant Physiology*, **2001**, 126: 485 – 493.

Wright W.C., *Artemisia*, Ed. Taylor & Francis, **2002**, p. 7.

Y

Youdim A.K., Shukitt-Hale B., Joseph A.J., Flavonoids and the Brain: Interactions at the Blood-Brain Barrier and their Physiological Effects on the Central Nervous System, *Free Radical Biology & Medicine*, **2004**, 37(11): 1683 – 1693.

Z

Zaporozhets O.A., Krushynska O.A., Lipkovska N.A., Barvinchenko V.N., A New Test Method for the Evaluation of Total Antioxidant Activity of Herbal Products, *J. Agric. Food Chem*, **2004**, 52: 21-25.

Zwenger S., Basu C., Plant terpenoids: applications and future potentials, *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, **2008**, 3(1): 1 – 7.

Full Length Research Paper

Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of a new essential oil chemotype of Algerian *Artemisia arborescens* L.

Kawther Younes¹, Salima Merghache^{1*}, Nassim Djabou^{1,2}, Djamila Merghache³,
Alain Muselli², Boufeldja Tabti¹ and Jean Costa²

¹Laboratory of Natural and Bioactive substances (LASNABIO), Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Aboubekr Belkaïd, P. O. Box 119, Tlemcen 13000, Algeria.

²UMR CNRS 6134, Laboratory of Chemistry of Natural Products, University of Corse, P. O. Box 52, 20250 Corte, France.

³Antibiotic and Antifungal Physico-Chemistry, Synthesis and Biological Activity, Faculty of Sciences of the Nature and the Life, University of Aboubekr Belkaïd, P. O. Box 119, Tlemcen 13000, Algeria.

Accepted 16 May, 2012

The aim of the present study is to investigate the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of three essential oils extracted by hydrodistillation from the aerial parts of *Artemisia arborescens* L., which was collected from three different regions near Tlemcen city in the West Northern of Algeria: Beni Snous, Bidar and Chetouane. The chemical composition was investigated using both capillary gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) techniques. Fifty-two compounds were detected, a total of fifty compounds, representing 81.8 to 90.2% of the total oils were identified in the three samples of essential oils. The essential oils of *A. arborescens* were rich in camphor (Beni Snous: 72.2%, Bidar: 50.3% and Chetouane: 32.8%). The present composition of the essential oils, with camphor as the only most abundant component, was considered as a new chemotype of *A. arborescens* growing in West Northern of Algeria. Antibacterial activity of the essential oils against gram-positive and gram-negative bacteria, was tested using the diffusion method and by determining the inhibition zone. The results showed that the oils had a great potential antibacterial activity against some bacteria. The maximum zone of inhibition was obtained against *Enterococcus faecalis* (22 mm). In contrast, the oils were ineffective on the inactivation of *Lysteria monocytogenes* and *Escherichia coli*. Antioxidant capacity was assessed by *in vitro* tests using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay and significant activity was found for these *A. arborescens* oils.

Key words: *Artemisia arborescens* L., Asteraceae, essential oil, chemical composition, chemotype, camphor, antibacterial activity, antioxidant activity.

INTRODUCTION

The genus *Artemisia* (Family Asteraceae, tribe Anthemideae) belongs to a useful group of aromatic and medical plants comprising a variable number of species

(from 200 to over 400, depending on the authors). The genus is wide spread on the Northern hemisphere, but only 10 taxons were identified on Southern hemisphere (Verdian-Rizi et al., 2008; Abou et al., 2010; Radoslaw et al., 2007).

Referring to phytochemistry, *Artemisia* species are distinguished by the presence of essential oils, polyacetylenes as well as lignans, sesquiterpene lactones and

*Corresponding author. E-mail: merghachesalima@yahoo.fr.
Tel: 213 43 28 63 08. Fax: 213 43 28 63 08.

flavonoids (Radoslaw et al., 2007).

Various species of *Artemisia* have been characterized for their biological activities. They are considered to produce most medicinally important secondary metabolites. Several studies using *Artemisia* spp. showed a series of antimicrobial and antioxidant activities (Ahameethunisa and Hopper, 2010; Baykan et al., 2012).

Artemisia species are frequently utilized for treatment of diseases such as inflammation, hepatitis, cancer and infections by malaria, fungi, bacteria and viruses. They are also reported to possess antidiabetic effect (Jeong-Dan, 2007; Nezhadali et al., 2008).

Artemisia is one of the genera of Asteraceae family with many important medicinally valuable essential oils that have been widely used for a variety of medicinal purposes for many years (Ahameethunisa and Hopper, 2010).

Artemisia arborescens L. is a medicinal and aromatic plant from Asteraceae family. It is an evergreen shrub which grows wild in the maritime cliffs and the bushes of littoral hills (Lai et al., 2006; Quezel and Santa, 1962, 1963). This plant has anticatarrh, mucolytic, anti-inflammatory, antiallergenic, antihistaminic and choloretic (increases bile production) properties. It is indicated for bronchial catarrh and for asthma, problems of the skin and insufficient bile production (Rosé and Earle, 1996).

The study of Saddi et al. (2007) demonstrated the antiviral activity of the essential oil *in toto* obtained from *A. arborescens* L. against herpes simplex virus 1 and 2 (HSV-1 and HSV-2). The mode of action of the essential oil as antiherpesvirus agent seems to be particularly interesting in consideration of its ability to inactivate the virus and to inhibit the cell-to-cell virus diffusion.

A. arborescens L. essential oil also demonstrated pesticidal activity against *Aphis gossipy* (a pest of citrus fruits), adult and young *Bemisia tabaci*, and *Lymantria dispar* L. (pest of *Quercus suber*) and was efficiently encapsulated in cross-linked alginate beads for a controlled release into the soil (Lai et al., 2006).

The chemical composition of *A. arborescens* L. essential oil has been intensively investigated throughout the world. The chemical composition of the essential oil of *A. arborescens* L. growing in Morocco revealed the presence of β -thujone and camphor as the main constituents (Codignola et al., 1984; Pappas and Sheppard-Hanger, 2000).

The essential oil of *A. arborescens* L. from USA was identified and the major constituents were chamazulene and camphor (Tucker et al., 1993; Pappas and Sheppard-Hanger, 2000). Analysis of essential oil of this plant collected from Italy (Sardinia) by gas chromatography-ion trap-mass (GC/ITMS) was reported and the characteristic components were camphor and β -thujone (Lai et al., 2006). Abderrahim et al. (2010) analyzed the

aerial part essential oil of *A. arborescens* L. from Bejaia province of East of Algeria. The most abundant components were chamazulene and β -thujone.

Recently, Militello et al. (2011) examined the chemical composition of *A. arborescens* L. essential oil growing wild in Sicily (Italy) and the capability to inhibit some food-borne pathogen bacteria. Oxygenated monoterpenes (57.32%) constituted the main fraction, with β -thujone as the main compound, followed by the sesquiterpene hydrocarbon chamazulene. Undiluted essential oil showed a large inhibition spectrum against strains of *Listeria monocytogenes*, whilst it was ineffective against *Enterobacteria* and *Salmonellas*. The minimum inhibition concentration (MIC) was evaluated for the two most sensitive strains (*L. monocytogenes* 186 and 7BO) at two cellular concentrations (10^6 and 10^7 CFU/ml). The lowest MIC (0.625 μ l/ml, dilution of oil with acetone) was found for strain *L. monocytogenes* 186 at 10^6 CFU/ml.

In addition, the essential oil of *A. arborescens* L. from Turkey was identified and the major constituents were camphor and chamazulene. The essential oil was also tested for antimicrobial activity using the disc-diffusion method against bacteria and fungus. The oil was significantly active against *Candida albicans* (18 mm) (Baykan et al., 2012).

Reviewing the current literature, there are no previous studies of the antioxidant activity of *A. arborescens* L. essential oil using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The aim of this work was, in the first step, to investigate the chemical composition of essential oils from aerial parts of *A. arborescens* L. collected near Tlemcen (the West Northern of Algeria) during flowering stage and the results were compared with previous reports. In the second step, the antibacterial and antioxidant activities of these essential oils were evaluated.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

The aerial parts of *A. arborescens* L. were collected from three regions near Tlemcen in the West Northern of Algeria: Beni Snous (853 m, 34°38'32"N, 1°33'45"W), Bidar (131 m, 35°4'0"N, 2°6'0"W) and Chetouane (573 m, 34°55'14"N, 1°17'29"W), during the flowering period (May, 2010).

Botanical identification of plant was conducted by Prof. Noury BENABADJI and a voucher specimen of the plant was deposited in the Herbarium of the Laboratory of Botany, Department of Biology, University of Aboubekr Belkaïd, Tlemcen, Algeria.

Before extraction, plants were extended by ground, in one layer, in an open room protected from the sun. During drying time, plants were turned over to allow homogeneous drying.

Essential oil isolation

The essential oils were isolated by hydrodistillation from the flowering aerial parts in Clevenger-type apparatus for 5 h.

Dichloromethane was used to recover the oils from the extractor apparatus. The organic phase was dried using anhydrous sodium sulphate and then the solvent was evaporated under reduced pressure in a rotary evaporator. The oil yield was expressed w/w versus dry matter. The essential oils were stored in sealed vials in the dark at +4°C before analysis and bioassays tests. The essential oils obtained were blue with a strong odor.

Essential oil analysis

Gas chromatography (GC)

GC analysis was performed using a Perkin-Elmer Clarus 600 GC apparatus (Walton, MA, USA) equipped with a single injector and two flame ionization detectors (FID). The analysis was carried out using two fused silica capillary columns (60 m × 0.22 mm i.d.; film thickness 0.25 µm) with different stationary phases: Rtx-1 (polydimethylsiloxane) and Rtx-Wax (polyethylene glycol). The operating conditions were as follows: Injector and detector temperatures were maintained at 280°C. Helium was used as carrier gas (1 ml/min), the injection volume was 0.1 µl, split ratio was adjusted at 1:80, the oven temperature was programmed from 60 to 230°C at the rate of 2°C/min and then held isothermally at 230°C for 30 min.

Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS)

The oils were investigated using a Perkin Elmer TurboMass quadrupole analyzer, directly coupled to a Perkin Elmer Autosystem XL equipped with two fused-silica capillary columns (60 m × 0.22 mm, film thickness 0.25 µm), Rtx-1 (polydimethylsiloxane) and Rtx-Wax (polyethylene glycol). Other GC conditions were the same as earlier described. Ion source temperature, 150°C; energy ionization, 70 eV; electron ionization mass spectra were acquired with a mass range of 35 to 350 Da; scan mass, 1 s. Oil injected volume, 0.1 µl.

Component identification

Identification of the components was based:

- 1) On comparison of their GC retention indices (RI) on non-polar and polar columns. with those of authentic compounds or literature data (Arômes Library, 1987-2011; König, 2001; Adams, 2001; Velasco-Negueruela et al., 2002; Dabiri and Sefidkon, 2003; Bendimerad et al., 2005; Cha, 2007; Dib et al., 2010; Khamsan et al., 2011).
- 2) On comparison of their recorded mass spectra with those of a computer library provided by instrument software and MS literature data (Arômes Library, 1987-2011; König, 2001; Adams, 2001; NIST, 1999; Mc Lafferty et al., 1988, 1994; Hochmuth, 2006). RI were determined with C₇ to C₂₅ alkane standards as reference,

Antibacterial activity

Bacterial strains

Antibacterial activities of *A. arborescens* essential oils were tested against 11 strains of bacteria: gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Enterococcus faecalis* (ATCC 49452), *L. monocytogenes*

(ATCC 15313) and gram-negative bacteria: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Citrobacter freundii* (ATCC 8090), *Proteus mirabilis* (ATCC 35659), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603). The microorganisms were obtained from "Institut Pasteur de Paris (IPP)".

Screening for antibacterial activity

Antibacterial activity was tested by the agar-well diffusion method (Bagamboula et al., 2004; Mighri et al., 2010). All bacterial cultures were first grown on Muller Hinton infusion (MHI) agar plates at 37 °C for 18 to 24 h prior to inoculation onto the nutrient agar. One or several colonies of similar morphology of the respective bacteria were transferred into API suspension medium (Biomérieux) and adjusted to 0.5 McFarland turbidity standard with a Densimat (Biomérieux).

The inoculums of the respective bacteria were streaked onto MHI agar plates using a sterile swab. A sterile filter disc (diameter 6 mm, Whatman paper No. 3) was placed. The disc was impregnated by the tested essential oils (10 µl/disc). The treated Petri dishes were placed at 4°C for 1 to 2 h and then incubated at 37°C for 24 h. Antibacterial activity was evaluated by measuring the zone of growth inhibition around the discs after 24 h of incubation at 37°C.

The diameter of the zones of inhibition around each of the discs was taken as measure of the antibacterial activity. Each experiment was carried out in triplicate and the mean diameter of the inhibition zone was recorded.

Antioxidant activity

DPPH radical scavenging assay

The hydrogen atoms or electron-donating ability of the corresponding essential oils was determined from the bleaching of purple-colored methanol solution of DPPH (Hatano et al., 1988). This spectrophotometric assay uses the stable radical DPPH as a reagent (Burits and Bucar, 2000; Tepe et al., 2005). Radical scavenging activity of essential oils was measured by slightly modified method of Mighri et al. (2010) and Braca et al. (2002) as later described. Different concentrations of each essential oil were prepared in methanol (10, 20, 40, 60, 80 and 100 mg/ml). A solution of DPPH in methanol (24 µg/ml) was prepared and 2 ml of this solution was added to 50 µl of essential oil solution in methanol at different concentrations (10, 20, 40, 60, 80 and 100 mg/ml). The solution of DPPH was prepared daily before measurements. The sample solutions were kept in the dark at ambient temperature and the absorbance was measured at 517 nm at different times using a spectrophotometer (Thermo spectronic Heliosy) against methanol. The blank sample was used as 2 ml of DPPH solution (24 µg/ml in methanol) with 50 µl of methanol. Decreasing of the absorbance of the DPPH solution indicates an increase in DPPH radical scavenging activity (% of inhibition). This activity is given as percent DPPH radical scavenging, which is calculated with the following equation:

$$\% \text{ DPPH radical scavenging} = [(A_0 - A_t)/A_0] \times 100$$

A₀, Absorbance of blank (t = 0 min); A_t, absorbance of tested sample solution at the time t.

The experiment was performed in triplicate and the average absorbance was noted for each measure. The same procedure was

followed for the positive control: ascorbic acid (AA) and tannic acid (TA). The methanol was used for baseline correction.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical composition

The essential oils were obtained by hydrodistillation using a Clevenger apparatus, from the aerial parts of *A. arborescens*, collected from different geographical origins near Tlemcen, a city in the West Northern of Algeria. The blue essential oils obtained (yields (w/w) in relation to the dry weight of the plant: Beni Snous (EOBS): 0.52%, Bidar (EOBD): 0.31% and Chetouane (EOCT): 0.64%) were analyzed by GC and GC/MS techniques. The relative percentages and the RI of the detected components were shown in Table 1. From the data obtained, fifty compounds were identified representing: EOBS: 90.2%, EOBD: 88.2% and EOCT: 81.8% of the total oils. Among these compounds, 13 monoterpene hydrocarbons, 14 oxygenated monoterpenes, 9 sesquiterpenes hydrocarbons, 9 oxygenated sesquiterpenes and 2 phenylpropanoids were identified.

In addition to our results, the yields of the essential oils, obtained from different geographical origins varied considerably (Table 1). The highest oil yield was obtained from *A. arborescens* L. harvested in EOCT (0.64%, w/w). Baykan et al. (2012), Abderrahim et al. (2010) and Lai et al. (2007) studied the essential oil of *A. arborescens* and found that the yields were 1.20, 0.87 and 0.80%, respectively. Comparatively, it was seen that we have obtained low yields.

As shown in Table 1, all studied oils were dominated by the oxygenated monoterpenes (EOBS: 78.4%, EOBD: 61.8% and EOCT: 50.9%). The camphor was found to be the major constituent in all essential oils (EOBS: 72.2%, EOBD: 50.3% and EOCT: 32.8%). The other main compounds with concentrations higher than 4% were Terpinen-4-ol (EOBD: 6.1% and EOCT: 8.9%), Myrcene (EOBD: 7.4%) and Chamazulene (EOCT: 8.7%).

In one recent report on chemical composition of the essential oil of *A. arborescens* L. collected in Bejaia (East Northern of Algeria), β -Thujone (27.8%) and Chamazulene (30.2%) were determined as the predominant constituents which were present in small quantities in our research. By contrast, camphor, characterized as the main constituent of our studied oils, was not identified in the essential oil from Bejaia (Abderrahim et al., 2010). This compound was identified, for the first time, in the essential oil of *A. arborescens* L. of Algeria. For further comparison, the camphor (35.73%) and β -thujone (23.97%) chemotype was also found in the essential oil of *A. arborescens* L. from Sardinia, Italy (Lai et al., 2006), while the highest contents of β -Thujone (45.04%) and chamazulene (22.71%) were characteristic

of essential oil isolated from Sicily, Italy (Militello et al., 2011). In addition, the major constituents of the essential oil of *A. arborescens* L. from Turkey were camphor (33.39%) and chamazulene (21.05%) (Baykan et al., 2012). Moreover, the Moroccan essential oil consisted, mainly of β -Thujone (30.06%) and camphor (21.67%) (Codignola et al., 1984; Pappas and Sheppard-Hanger, 2000). The chamazulene (39.60%) and camphor (16.71%) type oil was reported in USA (Tucker et al., 1993; Pappas and Sheppard-Hanger, 2000).

The present composition of the essential oils, with camphor as the only most abundant component (32.80 to 72.20%) was considered as a new chemotype of *A. arborescens* growing in West Northern of Algeria.

In conclusion, there are considerable qualitative and quantitative differences between the composition and the yield of essential oils from Algerian, Italian, Turkish, Moroccan and American (USA) origins. This variability can be attributed to the geographical region, climatic conditions, period of collection of the plant, state of plant (fresh or dry) and the method of extraction of the essential oil.

Antibacterial activity

The antibacterial activities of *A. arborescens* essential oils originating from the West Northern of Algeria were evaluated by paper disc diffusion method against 11 bacteria.

Table 2 showed that these oils have variable antibacterial activity against all tested strains. From our results, the variation in quantities of different components might be responsible for the different antibacterial activities. The inhibition zones were in the range of 7 to 22 mm. All bacterial strains showed less susceptibility to the EOBD. Among all gram-positive bacteria growths, the maximum zone of inhibition was recorded against *E. faecalis*: 22 mm, followed by *B. cereus*: 15 mm and *S. aureus*: 15 mm. Furthermore, the oils were ineffective against *L. monocytogenes*. On the other hand, seven different gram-negative bacterial strains were tested and among these microorganisms, *S. typhimurium* showed maximum zone of inhibition: 18 mm, followed by *C. freundii*: 15 mm and *K. pneumoniae*: 15 mm. In contrast, the oils did not show bacteria inhibitory effects on *E. coli*.

The essential oil of *A. arborescens* showed weak to good bacteria inhibitory effects on the test microorganisms. The antibacterial activity of *A. arborescens* essential oils would be related to their oxygenated monoterpenes components which constitute more than 50.9% of the oils. Indeed, in essential oils, it was shown that monoterpenes hydrocarbons and oxygenated monoterpenes are able to destroy cellular integrity resulting in respiration inhibition and permeability alteration (Cox et

Table 1. Chemical composition of *A. arborescens* L. essential oils from the West Northern of Algeria.

No.	Compound	IR ^a _{Lit}	IR ^b	IR ^c	Essential oil ^d		
					EOBS	EOBD	EOCT
Monoterpene hydrocarbon					(5.2)	(15.9)	(10.5)
1	α -Thujene	922	922	1020	0.1	0.1	0.1
2	α -Pinene	931	930	1018	0.1	0.5	0.4
3	Camphene	943	943	1061	tr	0.5	0.6
4	Sabinene	964	964	1116	0.9	0.7	0.1
5	β -Pinene	970	969	1106	0.1	0.1	tr
6	Myrcene	979	980	1154	2.0	7.4	2.7
7	α -Phellandren	997	997	1158	0.1	0.1	0.1
8	α -Terpinene	1008	1009	1173	0.2	1.0	0.9
9	p-Cymene	1011	1012	1261	0.7	1.4	1.3
10	Limonene	1020	1021	1193	0.3	0.5	0.4
11	γ -Terpinene	1047	1048	1238	0.6	2.6	3.1
12	Terpinolene	1078	1078	1275	0.1	0.5	0.7
13	1,4-Dihydro-p-menth-2-ene	1245	1242	2071	tr	0.5	0.1
Oxygenated monoterpene					(78.4)	(61.8)	(50.9)
14	1,8-Cineole	1020	1021	1205	0.1	0.2	0.3
15	Trans-sabinene-hydrate	1051	1053	1454	0.1	0.1	2.3
16	Cis-sabinene-hydrate	1083	1085	1509	2.1	2.3	3.4
17	α -Thujone	1089	1085	1387	0.2	0.3	0.4
18	β -Thujone	1103	1097	1411	0.9	1.1	1.0
19	Trans-pinene-hydrate	1110	1109	1387	0.2	0.3	0.5
20	Camphor	1123	1124	1505	72.2	50.3	32.8
21	Cis-pinene-hydrate	1130	1132	1411	0.1	0.1	0.1
22	Borneol	1148	1149	1694	tr	0.3	0.4
23	Terpinen-4-ol	1161	1163	1590	2.1	6.1	8.9
24	α -Terpineol	1179	1180	1694	tr	0.4	0.2
25	Cis-piperitol	1181	1190	1674	0.1	0.1	0.2
26	Trans-piperitol	1193	1195	1676	0.1	0.1	0.1
27	Périllaldéhyde	1248	1245	1785	0.2	0.1	0.3
Sesquiterpene hydrocarbon					(2.6)	(6.4)	(14.8)
28	α -Copaene	1379	1376	1483	tr	0.2	0.2
29	β -Bourbonene	1385	1383	1509	0.1	tr	0.1
30	Trans-caryophyllene	1424	1414	1584	0.4	0.3	0.7
31	γ -Murolene	1471	1468	1677	0.1	0.1	0.2
32	Germacrene -D	1480	1474	1694	1.5	2.1	3.5
33	(E,E)- α -farnesene	1498	1495	1736	0.2	0.3	0.8
34	γ -Cadinene	1507	1504	1742	0.1	0.1	0.1
35	δ -Cadinene	1516	1512	1752	0.1	0.1	0.5
36	Chamazulene	1713	1707	2360	0.1	3.2	8.7

al., 2000; Zouari et al., 2010). However, it is difficult to attribute the activity of a complex mixture to a single or particular constituent. Major or trace compounds might give rise to the antibacterial activity exhibited. In the oils, the possible compounds synergistic and antagonistic

effects would play an important role in bacterial inhibition and should also be taken into consideration.

From these results, it is concluded that the essential oils of *A. arborescens* have a capacity to inhibit the growth of both gram-positive and gram-negative bacterial

Table 1. Contd.

					(3.0)	(2.9)	(4.1)
	Oxygenated sesquiterpene						
37	Bornyl butyrate	1453	1449	1709	0.1	0.1	0.1
38	Elemol	1535	1532	2061	1.0	1.1	1.6
39	Caryophyllene oxide	1576	1574	1978	0.1	0.1	0.3
40	Geranyl isovalerate	1587	1586	1893	0.5	0.2	0.3
41	Aromadendrene oxide 2	1617	1616	1993	0.2	0.2	0.3
42	α -Eudesmol	1619	1620	2185	0.4	0.2	0.4
43	T-Cadinol	1632	1630	2164	0.2	0.3	0.1
44	Himachalol	1644	1636	2208	0.3	0.4	0.7
45	α -Bisabolol	1672	1665	2208	0.2	0.3	0.3
	Phenylpropanoid				(0.3)	(0.2)	(0.4)
46	Methyl eugenol	1367	1373	2007	0.2	0.2	0.3
47	Isochavicol isobutyrate	1541	1541	2132	0.1	Tr	0.1
	Others				(0.7)	(1.0)	(1.1)
48	Toluene	749	751	943	0.6	0.3	0.8
49	6-Methyl hept-5-en-2-one	963	961	1327	0.1	0.5	0.1
50	Jasmone	1364	1366	1885	tr	0.2	0.2
	Unidentified compounds				(1.6)	(1.5)	(3.3)
51	Unknown 1	-	1589	2284	0.4	0.2	1.0
52	Unknown 2	-	1997	2321	1.2	1.3	2.3
	Total detected				91.8	89.7	85.1
	Total identified				90.2	88.2	81.8
	Yield (%)				0.52	0.31	0.64

^aRetention indices of literature on the apolar column reported from Arômes Library (1987-2011), König (2001), Adams (2001), Velasco-Negueruela et al. (2002), Dabiri and Sefidkon (2003), Bendimerad et al. (2005), Cha (2007), Dib et al. (2010) and Khamsan et al. (2011).

^bRetention indices on the apolar Rtx-1 column. ^cRetention indices on the polar Rtx-Wax column. ^dPercentages are given on the apolar column except for components with identical RI (percentages are given on the polar column), tr, trace (< 0.05%); EO, essential oil of aerial part of *A. arborescens*, BS, Beni Snous; BD, Bidar; CT, Chetouane.

Table 2. Antibacterial activity of *A. arborescens* L. essential oils from the West Northern of Algeria.

Microorganism	Inhibition zone diameter (mm)		
	EOBD	EOBS	EOCT
Gram-positive bacteria			
<i>S. aureus</i>	8.0	14.0	15.0
<i>B. cereus</i>	n.a	15.0	13.5
<i>E. faecalis</i>	10.0	16.5	22.0
<i>L. monocytogenes</i>	n.a	n.a	n.a
Gram-negative bacteria			
<i>P. aeruginosa</i>	8.0	10.5	13.5
<i>E. coli</i>	n.a	n.a	n.a
<i>S. typhimurium</i>	n.a	18.0	18.0
<i>A. baumannii</i>	9.0	12.0	12.0
<i>C. freundii</i>	8.0	15.0	15.0
<i>P. mirabilis</i>	9.0	13.5	13.5
<i>K. pneumoniae</i>	7.0	15.0	14.0

EO, Essential oil (10 μ l/disc) of aerial part of *A. arborescens*; BD, Bidar; BS, Beni Snous; CT, Chetouane; n.a, not active.

strains. Further, they showed an interesting activity for some tested strains.

Antioxidant activity

To the best of our knowledge, there are no available reports on antioxidant activity of essential oil from *A. arborescens* using DPPH method. Antioxidant properties of essential oils were evaluated to find a new natural source of antioxidant. The potential antioxidant activity of the *A. arborescens* essential oils was determined on the basis of the scavenging activity of the free stable radical DPPH and their activity was compared to the synthetic antioxidant: AA and TA which were used as antioxidant references. The results obtained at different concentrations (10, 20, 40, 60, 80 and 100 mg/ml) are shown in Figure 1.

The results showed that the inhibitory activity of the most samples was higher than 50%, after 210 min of incubation time at room temperature. It is possible to conclude that the essential oils isolated from *A. arborescens* were able to give a proton to the stable radical DPPH that is, the principle of this method for the determination of antioxidant activity.

The best percentages of antioxidant activities were observed for the synthetic antioxidants AA and TA, generally used in food industry, more evident for low concentrations. At 40 and 60 mg/ml, the percentages of DPPH reduction reached 100% after 15 min of incubation time.

For essential oils, the antioxidant capacity was dependent on the concentrations tested. As shown in Figure 1, the antioxidant activity of EOBS increased with the increase of their concentrations from 10 to 100 mg/ml. For high concentration of EOBS (100 mg/ml), after 210 min of incubation time at room temperature the percentage of DPPH reduction reached 87.07%, while for low concentration (10 mg/ml) the percentage was 36.04%. The EOBD and EOCT showed at 20 mg/ml, the highest antioxidant capacity (EOBD: 84.16% after 15 min of incubation time and EOCT: 80.23% after 25 min of incubation time). Above this concentration (20 mg/ml), the antioxidant activity of EOBD and EOCT decreased. The same phenomenon was observed for the AA and TA, that they produced at 40 and 60 mg/ml their optimum antioxidant effect.

From these results, we can conclude that the antioxidant activity depends to the chemical composition of EOBS, EOBD and EOCT. The results showed that the inhibitory activities of essential oils EOBS (87.07% at 100 mg/ml), EOBD (84.16% at 20 mg/ml) and EOCT (80.23% at 20 mg/ml) were comparatively admirable for their inhibition capacity when compared to the positive controls AA (100% at 40 and 60 mg/ml) and TA (100% at 40 and 60 mg/ml).

Table 1 showed that essential oils of *A. arborescens* were markedly rich in oxygenated terpenes which may act as radical scavenging agents. It seems to be a general trend that the essential oils which contain oxygenated monoterpenes and/or sesquiterpenes have greater antioxidative properties (Tepe et al., 2004; Zouari et al., 2010). Furthermore, some researchers showed that some essential oils poor in phenolic compounds also, may have antioxidant potentials (El-Massry et al., 2002). Antioxidant activities of essential oils from aromatic plants are mainly attributed to the compounds present in them. This can be due to the high percentage of main but also to the presence of others constituents in small quantities or to synergy among them.

While the antioxidative activity of natural compounds is widely described, little information is reported on their kinetic behavior in the oxidation process. This represents however an important factor in the antioxidative activity process. In terms of reaction kinetics, Yen and Duh (1994) postulated that the more rapidly the absorbance decreased, the more potent were the antioxidant activity of the sample. Halliwell (1990) reported that the antioxidant power results first from the capacity to prevent the autoxidation of free radical mediated oxidation of the substrate in low concentration and second, that the resulting radical after scavenging must be stable. Es-Safi et al. (2007) also showed the evolution of remaining DPPH with time of each compound's family (flavonoids, iridoids,...). It showed that the compounds have a low kinetic behavior. Figure 1 showed the evolution of the percentage of reduction of DPPH with time of each sample at different concentrations (EOBS, EOBD, EOCT, AA and TA). It showed that AA, TA and EOBD have a rapid kinetic behavior. At 15 min, it reached the maximum percentage of reduction. For the AA, this confirms the result obtained by Cal et al. (2003). In contrast, others samples of essential oils at different concentrations have intermediate or slow kinetic behavior. According to Yen and Duh (1994), the samples AA, TA and EOBD are the more potents.

The free radical scavenging activity is usually expressed as percentage of DPPH inhibition but also by the antioxidant concentration required for 50% DPPH reduction (IC_{50}). Basically, a higher DPPH radical scavenging activity is associated with a lower IC_{50} value.

IC_{50} value was determined from plotted graph of scavenging activity against the different concentrations of *A. arborescens* essential oils, AA and TA. The scavenging activity was expressed by the percentage of DPPH reduction after 60 min of reaction. The measurements were triplicated and their scavenging effect was calculated based on the percentage of DPPH scavenged (Blois et al., 1958; Es-Safi et al., 2007; Singh et al., 2008). The obtained results are shown in Figure 2. The results show that EOBD (6.26 mg/ml) was the most potent of all the

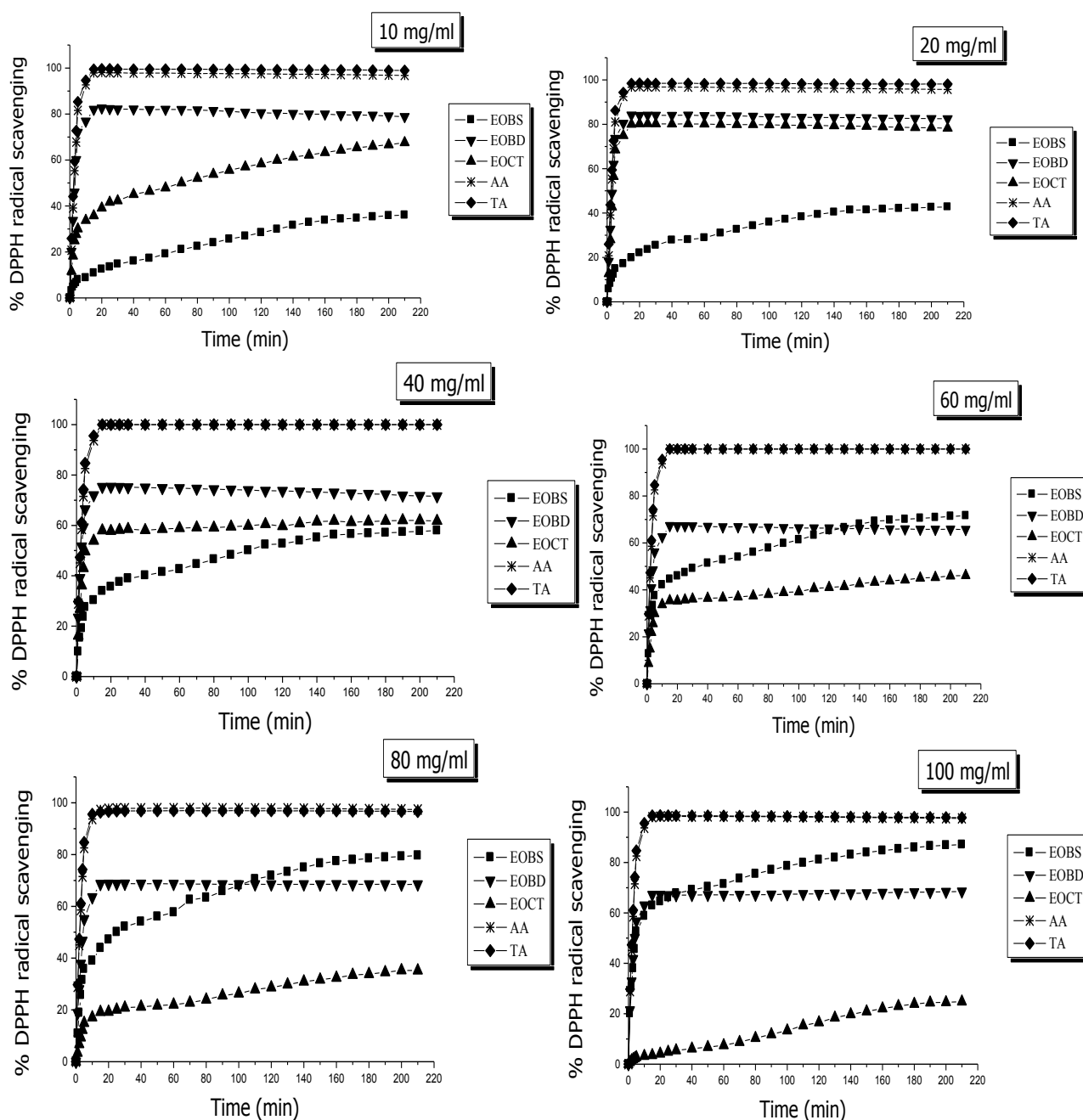


Figure 1. Percentage of DPPH radical scavenging as a function of reaction time for essential oils extracted from the aerial parts of *A. arborescens* L. and tested at different concentrations. EO, Essential oil of aerial part of *A. arborescens*; BS, Beni Snous; BD, Bidar; CT, Chetouane; AA, ascorbic acid; TA, tannic acid.

essential oils. It showed similar activity to AA (5.33 mg/ml) and TA (5.33 mg/ml). EOCT (10.67 mg/ml) also showed good activity compared to AA (5.33 mg/ml) and TA (5.33 mg/ml), while EOBBS (53.43 mg/ml) exhibits weak activity.

Conclusion

Chemical characterization, antibacterial screening and antioxidant activity studies on plant based essential oils could lead to a discovery of new natural bioactive

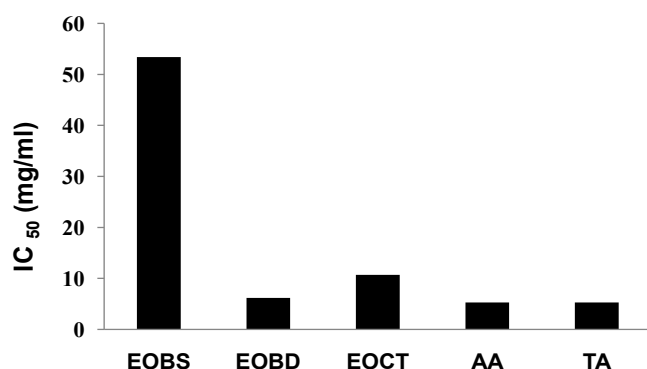


Figure 2. The concentration IC₅₀ (mg/ml) of essential oils needed to decrease by 50% the initial DPPH absorption at 517 nm. Free radical scavenging activity was measured after 60 min of reaction. EO, Essential oil of aerial part of *A. arborescens*; BS, Beni Snous; BD, Bidar; CT, Chetouane; AA, ascorbic acid; TA, tannic acid.

substances. This work allowed the identification of new chemotype of *A. arborescens* growing in West Northern of Algeria and confirmed the tremendous chemical variability of the Algerian *A. arborescens*. The camphor found as the only most abundant component, is not described in the published literature. Camphor was described for the first time in the essential oil of Algerian *A. arborescens*. Our results indicated also that these essential oils have *in vitro* a strong antibacterial activity against *E. faecalis* and *S. typhimurium*. In contrast, the oils were ineffective on the inactivation of *L. monocytogenes* and *E. coli*. The study has also shown that the essential oils have *in vitro* a strong antioxidant activity when compared to the positive control. These results could support the use of plant by traditional healers to treat various infective diseases. These properties indicate the possibility of exploitation of essential oil of *A. arborescens* for food and pharmaceutical industries.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are very grateful to Professor Kajima M.J, Director of Laboratory of Organic Chemistry, Natural Substances and Analysis (COSNA), Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Aboubekr Belkaïd, Algeria for providing facilities to conduct antioxidant activity.

REFERENCES

- Abderrahim A, Belhamek K, Chalchat JC, Fiquérédó G (2010). Chemical composition of the essential oil from *Artemisia arborescens* L. growing wild in Algeria. *Rec. Nat. Prod.* 4(1):87–90.
- Abou EHM, El-Sayed MA, Hegazy ME, Helaly SE, Esmail AM, Mohamed NS (2010). Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Rec. Nat. Prod.*, 4(1): 1–25.
- Adams RP (2001). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing, Carol Stream, IL, USA.
- Ahameethunisa AR, Hopper W (2010). Antibacterial activity of *Artemisia nilagirica* leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria. *BMC Complement. Altern. Med.* 10:6.
- Arômes library of Laboratory of Chemistry of Natural Products (1987–2011). University of Corse, Corte, France. UMR CNRS. p 6134.
- Bagamboula CF, Uyttendaele M, Candan F, Daferera D, Unli GV, Polissiou M, Sokmen A (2004). Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol Extracts. *Food Chem.* 84:519–552.
- Baykan ES, Reznicek G, Senol SG, Karabay Yavasogul NU, Konyalioglu S, Ulvi Zeybek A (2012). Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia. *Turk. J. Biol.* 36:75–84.
- Bendimerad N, Taleb SA, Benabadji AB, Fernandez X, Valette L, Lizzani-Cuvelier L (2005). Composition and antibacterial activity of *Pseudocytisus intergrifolius* (Salisb). essential oil from Algeria. *J. Agric. Food Chem.* 53:2947–2952.
- Blois MS (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 29:1199–1200.
- Braca A, Sortino C, Politi M, Morelli I, Mendez J (2002). Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *J. Ethnopharmacol.* 79(3):379–381.
- Burits M, Bucar F (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res.* 14:323–328.
- Cal Y, Sun M, Corke H (2003). Antioxidant activity of Betalains from plant of the *Amaranthaceae*. *J. Agric. Food Chem.* 51:2288–2294.
- Cha JD (2007). Chemical composition and antibacterial activity against oral bacteria by essential oil of *Artemisia iwayomogi*. *J. Bacteriol. Virol.* 37(3):129–136.
- Codignola A (1984). L'huile essentielle de *Artemisia arborescens* L. spontanée en Italie et cultivée au Maroc. *Allionia* 26:89–95.
- Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR, Wyllie SG (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.* 88:170–175.
- Dabiri M, Sefidkon F (2003). Chemical composition of the essential oil of *Nepeta racemosa* Lam. from Iran. *Flavour Fragr. J.* 18:157–158.
- Dib MA, Djabou N, Desjobert JM, Allali H, Tabti B, Muselli A, Costa J (2010). Characterization of volatile compounds of *Daucus crinitus* Desf. Headspace solid phase microextraction as alternative technique to hydrodistillation. *Chem. Cent. J.* 4(16):1–15.
- El-Massry KF, El-Ghorab AH, Farouk A (2002). Antioxidant activity and volatile components of Egyptian *Artemisia judaica* L. *Food. Chem.* 79(3):331–336.
- Es-Safi NE, Kollmann A, Khelifi S, Ducrot PH (2007). Antioxidative effect of compounds isolated from *Globularia alypum* L. structure – activity relationship. *LWT* 40:1246–1252.
- Halliwell B (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.* 9:1–32.
- Hatano T, Kagawa H, Yasahara HT, Okuda T (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 36(6):2090-7.
- Hochmuth D (2006). Mass Spectral Library “Terpenoids and related constituents of essential oils”. Library of Mass Finder 3.0, Hamburg, Germany.
- Jeong-Dan C (2007). Chemical composition and antibacterial activity against oral bacteria by essential oil of *Artemisia iwayomogi*. *J. Bacteriol. Virol.* 37(3):129–136.
- Khamsan S, Liawruangrath B, Liawruangrath S, Teerawutkulrag A, Pyne SG, Garson MJ (2011). Antimalarial, anticancer, antimicrobial activities and chemical constituents of essential oil from the aerial parts of *Cyperus kyllingia* Endl. *Rec. Nat. Prod.* 5(4):324–327.
- König WA, Hochmuth DH, Joulain D (2001). Terpenoids and related constituents of essential oils. Library of Mass Finder 2.1, University of Hamburg, Institute of Organic Chemistry, Hamburg, Germany.

- Lai F, Sinico C, De Logu A, Zaru M, H Müller R, Fada AM (2007). SLN as a topical delivery system for *Artemisia arborescens* essential oil: *In vitro* antiviral activity and skin permeation study. *Int. J. Nanomed.* 2(3):419–425.
- Lai F, Wissing SA, Muller RH, Fadda AM (2006). *Artemisia arborescens* L. essential oil- loaded solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: preparation and characterization. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2:E₁ – E₉, 7: 1.
- Mc Lafferty FW, Stauffer DB (1988). The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data. Wiley-Interscience, New York. p 4.
- Mc Lafferty FW, Stauffer DB (1994). Wiley Registry of Mass Spectral Data. Mass Spectrometry Library Search System, Bench-Top/PBM version 3.10d, Palisade, Newfield. p 6.
- Mighri H, Hadjlaoui H, Akrouf A, Najjaa H, Neffati M (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *C. R. Chimie.* 13: 380–386.
- Militello M, Settanni L, Aleo A, Mamma C, Moschetti G, Giammanco GM, Blazquez MA, Carrubba A (2011). Chemical composition and antibacterial potential of *Artemisia arborescens* L. essential oil. *Curr. Microbiol.* 62(4):1274–1281.
- Nezhadali A, Akbarpour M, Zarrabi Shirvan B (2008). Chemical composition of the essential oil from the aerial parts of *Artemisia herba*. *E. J. Chem.* 5(3):557–561.
- NIST (National Institute of Standards and Technology) (1999). PC Version 1.7 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library Perkin Elmer Corporation, Norwalk, CT.
- Pappas R, Sheppard-Hanger S (2000). *Artemisia arborescens* - essential oil of the Pacific Northwest: a high-chamazulene, low-thujone essential oil with potential skin-care applications. *Aromather. J.* 10:30–33.
- Quezel P, Santa S (1962 -1963). Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edition du CNRS, Paris.
- Radoslaw K, Wawrzykowski J, Zawislak G (2007). Analysis of essential oils and extracts from *Artemisia abrotanum* L. and *Artemisia dracuncululus* L. *Herba Polonica* 53(3):246 – 254.
- Rosé J, Earle S (1996). The World of Aromatherapy. Berkeley, California. p 206.
- Saddi M, Sanna A, Cottiglia F, Chisu L, Casu L, Bonsignore L, De Logu A (2007). Antiherpes activity of *Artemisia arborescens* essential oil and inhibition of lateral diffusion in Vero cells. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 6:1–10.
- Singh R, Singh N, Saini BS, Rao HS (2008). *In vitro* antioxidant activity of pet ether extract of black pepper. *Ind. J. Pharmacol.* 40:147–151.
- Tepe B, Donmez E, Unlu M, Candan F, Daferera D, Vardar-Unlu G, Polissiou M, Sokmen A (2004). Antibacterial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Ancher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chem.* 84:519–525.
- Tepe B, Sokmen M, Sokmen A, Daferera D, Polissiou M (2005). Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill). *Manden. and Scheng. J. Food Eng.* 69:335–342.
- Tucker A, Maciarello MJ, Sturtz G (1993). The essential oils of *Artemisia* "Powis Castle" and its putative parents, *A. absinthium* and *A. arborescens*. *J. Essent. Oil Res.* 5:239–242.
- Velasco-Negueruela A, Pérez-Alonso MJ, Palà-Paül J, Inigo A, Lopez G (2002). Leaf essential oils of *Juniperus navicularis Gandoger*. *Bot. Complutensis*, 26:85–91.
- Verdian-Rizi MR, Sadat-Ebrahimi E, Hadjiakhoondi A, Fazeli MR, Pirali Hamedani M (2008). Chemical composition and antimicrobial Activity of *Artemisia annua* L. essential oil from Iran. *J. Med. Plants* 7(4):58–62.
- Yen GC, Duh PD (1994). Scavenging effect of methanolic extracts of *peanut hulls* free-radical and active-oxygen species. *J. Agric. Food Chem.* 42:629–632.
- Zouari S, Zouari N, Fakhfakh N, Bougateg A, Ayadi MA, Neffati M (2010). Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso. *J. Med. Plant Res.* 4(10):871–880.

Résumé : Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales de la région ouest d'Algérie : *Artemisia arborescens* L. et *Cardaria draba* (L.) Desv.

Dans le but de valoriser les plantes algériennes dans la recherche de nouvelles molécules biologiquement actives, deux plantes de la région de Tlemcen : *Artemisia arborescens* L. et *Cardaria draba* (L.) Desv. ont été testées pour un criblage chimique et biologique. Les résultats obtenus au cours de ce travail complètent et confortent une démarche scientifique de plus en plus fréquente : l'établissement de relations entre l'utilisation empirique de plantes par les populations, et la connaissance scientifique, et plus particulièrement chimique, de ces plantes.

Une caractérisation chimique des huiles essentielles, isolées par hydrodistillation, par les techniques de CPG et CPG/SM a été réalisée. De nouveaux chémotypes ont été identifiés (*Artemisia arborescens* L. : Camphre), (*Cardaria draba* (L.) Desv. : 6, 10,14-Triméthyl-2-pentadécane et (E)- Phytol).

Des extractions de différentes parties des deux plantes, en utilisant trois solvants de polarité croissante, ont été effectuées. Les dosages des polyphénols et des flavonoïdes évalués, respectivement, par la méthode de Folin- Ciocalteu (F-C) et la méthode de chlorure d'aluminium montrent la richesse de tous les extraits en composés polyphénoliques.

Une évaluation des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits des plantes sélectionnées a été étudiée. Les résultats montrent que l'extrait aqueux de la partie aérienne de la plante *Artemisia arborescens* L. possède une activité antidiabétique importante. D'autre part, l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Artemisia arborescens* L. a été évaluée, *in vitro*, contre onze espèces bactériennes. L'huile montre une activité antibactérienne remarquable vis-à-vis les souches : *Enterococcus faecalis* et *Salmonella typhimurium*.

L'activité anti-radicalaire des huiles essentielles et des extraits des deux plantes a été déterminée par la méthode de DPPH. Tous les échantillons testés montrent une activité anti-radicalaire acceptable, en comparant aux antioxydants de référence.

Mots clés : *Artemisia arborescens* L., *Cardaria draba* (L.) Desv., Huile essentielles, Polyphénols, activité anti-radicalaire, activité antibactérienne, activité antidiabétique.

Abstract: Contribution to the chemical and biological study of two medicinal plants of the west region of Algeria: *Artemisia arborescens* L. and *Cardaria draba* (L.) Desv.

In order to enhance the Algerian plants in the research for new biologically active molecules, two plants of the region of Tlemcen: *Artemisia arborescens* L. and *Cardaria draba* (L.) Desv. were tested for the chemical and biological screening. The results obtained in this work complement and reinforce a scientific approach increasingly common: the establishment of relations between the empirical use of plants by people and scientific knowledge, particularly chemical, of these plants.

A chemical characterization of essential oils isolated by hydrodistillation, using the techniques of GC and GC/MS was performed. New chemotypes were identified (*Artemisia arborescens* L.: Camphor), (*Cardaria draba* (L.) Desv: 6, 10,14 – trimethyl-2-pentadecanone and (E)- Phytol.

Extractions of two different parts of plants, using three solvents of increasing polarity, were performed. Dosages of polyphenols and flavonoids evaluated respectively by the Folin - Ciocalteu method (F-C) and the method of the aluminum chloride showed that all extracts are rich in polyphenolic compounds.

An evaluation of the biological activities of essential oils and extracts of selected plants was investigated. The results show that the aqueous extract from the aerial part of *Artemisia arborescens* L. has a significant anti-diabetic activity. On the other hand, the antibacterial activity of essential oils of *Artemisia arborescens* L. was evaluated, *in vitro*, against eleven bacterial species. The oils showed a remarkable antibacterial activity against the strains: *Enterococcus faecalis* and *Salmonella typhimurium*.

The anti-radical activity of essential oils and extracts of two plants was determined by the method of DPPH. All tested samples showed an acceptable anti-radical activity, compared with the reference antioxidants.

Key words: *Artemisia arborescens* L., *Cardaria draba* (L.) Desv., Essential oils, Polyphenols, anti-radical activity, antibacterial activity, antidiabetic activity..

ملخص: المساهمة في دراسة كيميائية و بيولوجية لنبتين طبيئتين في منطقة الغرب الجزائري: نبتة الشيبية و النبتة المدعوة بتخميجت

من أجل تعزيز النباتات الجزائرية في البحث عن الجزيئات الجديدة النشطة بيولوجيا، تم اختبار نبتتين من منطقة تلمسان : نبتة الشيبية و نبتة تخميجت للكشف عن المواد الكيميائية و البيولوجية. النتائج المتحصل عليها في هذا العمل تكمل و تعزز النهج العلمي: اقامة علاقات بين الاستخدام التجريبي للنبتتين من قبل الناس و المعرفة العلمية، خاصة الكيميائية، لهاتين النبتتين. تم اجراء البحث عن الخاصية الكيميائية للزيوت العطرية، المستخلصة عن طريق استخدام تقنية التقطير المائي، باستعمال تقنية الكروماتوغرافية الغازية و الكروماتوغرافية الغازية المتصلة بمطياف الكتلة. تم تحديد مركبات جديدة: (نبتة الشيبية: الكافور، نبتة تخميجت: 6،10،14- ثلاثي ميثيل، 2- بنتاديكانون و فيتول).

أجريت عمليات الاستخراج من قسمين مختلفين من النبتتين و ذلك باستخدام ثلاث مذيبات ذات قطبية متزايدة. تم تقييم مادة البوليفينول و الفلافونيد، على التوالي، من خلال طريقة فولين و طريقة كلوريد الألومنيوم و أظهرت النتائج أن جميع المركبات غنية بالمكونات البوليفينولية.

تمت دراسة الأنشطة البيولوجية للزيوت الأساسية و المستخلصات من النبتتين المختارتين. أظهرت النتائج أن المستخلص المائي لنبتة الشيبية لديه النشاط المعترف المضاد للسكري. من ناحية أخرى، تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية لنبتة الشيبية ضد أحد عشر نوع بكتيري. الزيوت الأساسية أثبتت قدرتها المضادة للبكتيريا تجاه بعض السلالات.

كما أثبتت النتائج أن جميع المستخلصات المدروسة للنبتتين أظهرت نشاطها المضاد للراديكالية، مقارنة مع مضادات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: نبتة الشيبية، نبتة تخميجت، الزيوت الأساسية، البوليفينول، النشاط المضاد للراديكالية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للسكري.